

Année 1908

THÈSE

N°

POUR LE

DOCTORAT EN MÉDECINE

Présentée et soutenue le jeudi 6 février 1908, à 1 heure

Par ANDRÉ PHILIBERT

Né à Paris, le 5 octobre 1875,

Interne lauréat des hôpitaux de Paris (Médaille d'or, médecine 1907),

Licencié ès-sciences naturelles

Lauréat de l'Académie de Médecine

(Prix de médecine Stansky 1904 — Prix Oulmont 1907)

LES

PSEUDO-BACILLES ACIDO-RÉSISTANTS

CRITIQUE DES MÉTHODES

DE COLORATION DU BACILLE TUBERCULEUX

REVISION DU GROUPE DES BACILLES DITS ACIDO-RÉSISTANTS

Travail du Laboratoire de Bactériologie

de la Faculté de Médecine de Paris

Président : M. GILBERT, professeur.

*Juges : MM. CHANTEMESSE, } professeurs.
RAYMOND, }
CLAUDE, agrégé.*

PARIS

G. STEINHEIL, ÉDITEUR

2, RUE CASIMIR-DELAVIGNE, 2

1908

FACULTÉ DE MÉDECINE DE PARIS

Doyen..... M. LANDOUZY.
Professeurs MM.

Anatomie.....	NICOLAS.
Physiologie.....	Ch. RICHET.
Physique médicale.....	GARIEL.
Chimie organique et chimie minérale.....	GAUTIER.
Histoire naturelle médicale.....	R. BLANCHARD
Pathologie et thérapeutique générales.....	BOUCHARD
Pathologie médicale.....	DEJERINE.
Pathologie chirurgicale.....	BRISSAUD.
Anatomie pathologique.....	LANNELONGUE.
Histologie.....	MARIE (PIERRE).
Opérations et appareils.....	PRENANT.
Pharmacologie et matière médicale.....	QUENU.
Thérapeutique.....	POUCHET.
Hygiène.....	GILBERT.
Médecine légale.....	CHANTEMESSE.
Histoire de la médecine et de la chirurgie.....	THOINOT.
Pathologie expérimentale et comparée.....	BALLET (GILBERT)
	ROGER.
Clinique médicale.....	HAYEM.
	DIEULAFOY.
	DEBOVE.
	LANDOUZY.
	HUTINEL.
Clinique des maladies des enfants.....	JOFFROY.
Clinique de pathologie mentale et des maladies de l'encéphale.....	GAUCHER.
Clinique des maladies cutanées et syphilitiques.....	RAYMOND.
Clinique des maladies du système nerveux.....	LE DENTU.
Clinique chirurgicale.....	BERGER.
	RECLUS.
	SEGOND.
Clinique ophtalmologique.....	DE LAPERSONNE.
Clinique des maladies des voies urinaires.....	ALBARRAN.
Clinique d'accouchements.....	PINARD.
	BAR.
Clinique gynécologique.....	POZZI.
Clinique chirurgicale infantile.....	KIRMISSON
Clinique thérapeutique.....	ROBIN

Agrégés en exercice.

MM.	MM.	MM.	MM.
AUVRAY.	CUNÉO.	LAUNOIS.	NOBÉCOURT.
BALTHAZARD.	DEMELIN.	LECENE.	OMBREDANNE.
BEZANÇON.	DESGREZ.	LEGRY.	POTOCKI.
BRANCA.	DUVAL.	LENORMANT.	PROUST.
BRINDEAU.	GOSSET.	LOEPER.	RENON.
BROCA (ANDRÉ).	GOUGET.	MACAIGNE.	RICHAUD.
BRUMPT.	JENNIN.	MAILLARD.	RIEFFEL. <i>Chef des</i>
CARNOT.	JEANSELME.	MARION.	<i>travaux anatomiques</i>
CASTAIGNE.	JOUSSET.	MORESTIN.	SIARD.
CLAUDE.	LABBÉ.	MULON.	ZIMMERN.
COUVELAIRE.	LANGLOIS.	NICLOUX.	

Secrétaire de la Faculté : M. DESTOUCHES.

Par délibération en date du 9 décembre 1798, l'Ecole a arrêté que les opinions émises dans les dissertations qui lui seront présentées doivent être considérées comme propres à leurs auteurs et qu'elle n'entend leur donner aucune approbation ni improbation.

A MON MAITRE ET PRÉSIDENT DE THÈSE

A M. LE PROFESSEUR A. GILBERT

INTERNAT (MÉDAILLE D'OR) 1907-1908

qui m'a accueilli dans son service et m'a fait le grand honneur de présider cette thèse, en hommage de ma profonde reconnaissance.

A M. LE PROFESSEUR AGRÉGÉ FERNAND BEZANÇON

qui m'a inspiré ce travail, qui m'a appris à aimer et à comprendre la médecine et qui, en même temps qu'un maître incomparable, fut pour moi en toutes circonstances le plus dévoué et le plus sûr des amis. En faible témoignage de ma profonde et respectueuse affection.



Digitized by the Internet Archive
in 2026

A M. LE PROFESSEUR Y. DELAGE

PROFESSEUR DE ZOOLOGIE A LA SORBONNE, MEMBRE DE L'INSTITUT.

A M. LE PROFESSEUR CORNIL

A MES MAITRES D'INTERNAT

M. LE DOCTEUR FERNAND WIDAL (1906-1907).

M. LE PROFESSEUR CHANTEMESSE (1905-1906).

M. LE DOCTEUR LE GENDRE (1904-1905).

M. LE DOCTEUR DE BEURMANN (1903-1904).

M. LE DOCTEUR MOSNY (Interne provisoire 1903).

A MES AUTRES MAITRES DANS LES HOPITAUX ET DANS
LES LABORATOIRES

MM. LES PROFESSEURS F. TERRIER, E. GAUCHER ET KIR-
MISSON; MM. LES PROFESSEURS AGRÉGÉS THIROLOIX,
HARTMANN, GOSSET, MARCEL LABBÉ; M. LE DOCTEUR
VINCENT GRIFFON, M. LE DOCTEUR DUFOUR, M. LE
DOCTEUR SERGENT.

En témoignage de ma reconnaissance,

INTRODUCTION

Le mot « acido-résistant », introduit depuis quelques années dans la terminologie bactériologique, est une de ces épithètes, comme il en est parfois en médecine, qui créées et employées d'abord sous une acception nettement définie, sont déviées par la suite de leur sens primitif, prennent une extension insolite, et ne sont pas sans jeter quelque désarroi dans l'esprit des médecins.

Le terme « acido-résistant » (*sauere-fest*) fut créé par Koch et Petri en 1896, et appliqué pour la première fois à des bacilles rencontrés dans le beurre. Ces bacilles, très voisins du bacille tuberculeux par leur forme, avaient comme lui la propriété de résister nettement à l'action décolorante des acides, et conservaient cette propriété sur les milieux de culture. Pourtant ces bacilles différaient du bacille de la tuberculose par certains de leurs caractères de culture et surtout par leur pouvoir pathogène. Koch et Petri, n'osant identifier ces bacilles au bacille tuberculeux, les désignèrent sous le nom de *sauere-fest*, c'est-à-dire « acido-résistant ».

L'épithète fut étendue ensuite à des bacilles en tous points analogues aux bacilles du beurre de Koch et Petri, rencontrés dans le lait (Møller), sur les graminées (bacille de Thimothee, *Gras-bacillus* de Møller).

Le mot acido-résistant ne tarda pas à être dévié de son sens primitif pour être appliqué indifféremment à tout microbe qui (quels que fussent d'ailleurs ses autres caractères), coloré par

la méthode d'Ehrlich, dans un produit de sécrétion normale ou pathologique, résistait à la décoloration par les acides dilués.

Le terme acido-résistant, primitivement employé pour caractériser des espèces nettement définies (bacille du beurre, bacille du lait, bacille de Thimothée, etc.), était ainsi rabaisé à désigner une propriété histo-chimique et comme d'autre part la propriété acido-résistante est communément considérée comme le caractère fondamental d'espèce du bacille tuberculeux, tout microbe présentant cette propriété acido-résistante fut implicitement rapproché du bacille de Koch (1). Ainsi se constitua autour du bacille de la tuberculose un groupement qui, quoique purement artificiel, ne tarda pas à prendre les allures d'une véritable famille : « les bacilles acido-résistants ».

Si l'épithète d'acido-résistant avait toujours été appliquée exclusivement à des microbes présentant exactement la même réaction colorante que le bacille de Koch, ce groupement aurait une réelle valeur, mais il n'en est rien, et si on lit avec soin, comme nous l'avons fait, la plupart des mémoires écrits sur les bacilles acido-résistants, on est frappé de ce fait que beaucoup de microbes ont été qualifiés acido-résistants, sans doute parce qu'ils résistaient à la décoloration des acides à un certain degré, *mais dans des conditions absolument différentes de celles qui font attribuer au bacille de Koch le qualificatif acido-résistant.*

(1) Peu après la découverte du bacille de la tuberculose, on rencontra bien dans le smegma et dans le cérumen des bacilles qui résistaient un peu à la décoloration par les acides, mais on ne les appela pas acido-résistants. A cette époque, on chercha à les différencier du bacille tuberculeux, et ce n'est que beaucoup plus tard qu'on s'en souvint pour les englober dans le groupe des bacilles acido-résistants.

L'erreur provient du fait que dans ces dernières années pour la recherche du bacille de Koch lui-même, un certain nombre de bactériologistes ont eu tendance à substituer à la technique originelle d'Ehrlich des méthodes différentes, approchées, moins électives et que ce sont précisément ces méthodes qui ont servi à l'étude des bacilles dits acido-résistants, dans un grand nombre de cas.

Depuis plusieurs années, notre maître, M. Bezançon et moi nous nous sommes attachés à l'étude des bacilles acido-résistants.

Nous avons été amenés à nous occuper de cette question par nos recherches faites avec M. Griffon (1) sur la présence du bacille de Koch dans le sang et les sérosités pathologiques.

Expérimentalement, après avoir injecté du bacille tuberculeux dans le sang de lapin, nous avons pu retrouver ce bacille par l'examen direct, au moyen de la méthode de l'homogénéisation du caillot par la lessive de soude (Procédé de Biedert). Mais en appliquant soit cette méthode d'homogénéisation, soit la méthode d'inoscopie de M. Jousset, à du sang recueilli au moyen de ventouses scarifiées chez des tuberculeux, ou bien aux sérosités pleurales recueillies aseptiquement, nous avons vu que dans ces derniers cas, si l'on peut rencontrer des bacilles résistant bien et énergiquement à la décoloration par la technique d'Ehrlich, on rencontre également des bacilles tantôt morphologiquement semblables, tantôt morphologiquement très différents du bacille tuberculeux, et ces derniers bacilles restent justement colorés si l'on emploie des techni-

(1) FERNAND BEZANÇON, GRIFFON et ANDRÉ PHILIBERT, *Soc. de Biol.*, janvier et février 1903.

ques approchées, tandis qu'ils se décolorent si l'on traite les lames qui les renferment par la méthode de décoloration rigoureuse.

Ces bacilles, qui végètent à la température de la chambre, qui perdent leur acido-résistance légère, quand ils sont cultivés sur les milieux ordinaires, — non pathogènes au surplus pour le cobaye, — sont bien différents du bacille de Koch, des bacilles acido-résistants du beurre de Koch-Petri-Rabinowitsch et ne méritent pas de prendre place à côté d'eux.

Déjà, au Congrès de la tuberculose en 1905, nous sommes élevés, avec M. Bezançon, contre le groupement factice des acido-résistants, et nous avons insisté sur la nécessité de distinguer dans ce groupe : les bacilles héréditairement acido-résistants, comme le bacille de Koch et les bacilles acido-résistants du lait, du beurre, etc. et les bacilles accidentellement acido-résistants.

Dans ce travail fait en partie (1) avec M. le Dr Bezançon et sous sa direction, nous nous proposons de montrer que toute la confusion qui s'attache au terme acido-résistant provient de ce que l'on n'a pas suffisamment défini les conditions dans lesquelles ce terme doit être appliqué.

Cette étude suppose d'abord une connaissance exacte des réactions colorantes précises du trouble tuberculeux.

1° La première partie de notre travail sera consacrée à cette recherche, et à l'analyse critique des nombreuses méthodes proposées pour colorer le bacille de Koch.

(1) FERNAND BEZANÇON et ANDRÉ PHILIBERT, Etude comparée de l'acido-résistance du bacille de Koch et des bacilles acido-résistants. *Bull. de la Soc. d'Etudes sc. sur la tuberculose*, juillet et novembre 1907. — FERNAND BEZANÇON et ANDRÉ PHILIBERT, Sur la nature de l'acido-résistance du bacille tuberculeux. *Ibid.*, p. 214.

Ce point établi aussi strictement que possible, il nous sera possible :

2° De rechercher dans le groupe des bacilles dits acido-résistants quels sont ceux qui doivent se classer au voisinage du bacille de la tuberculose, ou bien se ranger dans le groupe des accidentellement acido-résistants,

Et 3° d'établir des règles de technique qui en pratique permettront de séparer les seconds des premiers et d'éviter en clinique des erreurs de diagnostic, autrement dit de donner la meilleure méthode de recherche du bacille de Koch.

Au cours de cette étude, sans cesse occupé de la propriété acido-résistante, réelle ou accidentelle, il était logique d'en rechercher le pourquoi, la cause intime, dont l'intérêt pouvait peut être dépasser le champ restreint d'une réaction colorante : c'est par un essai dans ce sens que nous terminerons ce travail.

CHAPITRE PREMIER

HISTORIQUE

Etant donné l'intérêt qui s'attache à l'étude de la réaction colorante du bacille tuberculeux, étant donné d'autre part que, sous prétexte de perfectionnement, les auteurs ont proposé des méthodes de coloration et de décoloration différentes, s'éloignant des techniques fondamentales qui ont servi à édifier cette réaction colorante, il nous a paru intéressant de rappeler avec quelque détail les phases par lesquelles a passé la question de la coloration du bacille tuberculeux.

Koch, en 1889, guidé par des idées théoriques, réussit le premier à colorer le bacille dans des produits caséeux. Il avait remarqué que les microbes se colorent mieux au contact des couleurs basiques. Aussi eut-il l'idée d'ajouter de la potasse au bleu de méthylène.

La formule qu'il employa est la suivante :

Solution alcoolique concentrée de bleu de	
méthylène	1 cent. cube
Eau distillée	200 —
Solution de potasse à 10 0/0.	0 gr. 20

Il n'aurait pas réussi s'il avait laissé agir le colorant comme il est d'usage de le faire pour les autres microbes, pendant quelques minutes ou pendant quelques secondes.

Mais il colora pendant 24 heures, puis lava à l'eau (1). Le

(1) On a montré plus tard que les simples solutions aqueuses sont ca-

bacille était coloré en bleu sur les lamelles qu'il avait faites.

On comprend bien pourquoi Koch a pu réussir : le bacille, comme nous le verrons, se laisse difficilement pénétrer par les colorants, aussi faut-il le laisser longtemps au contact de la teinture : Koch l'a laissé 24 heures.

Une fois coloré, le bacille résiste bien à la décoloration des agents employés pour le lavage. Mais il résiste d'autant moins que le colorant l'a moins pénétré : Koch, qui avait employé un colorant, en somme peu pénétrant, a simplement lavé à l'eau (1).

La méthode de Koch, tout intéressante qu'elle soit au point de vue historique et au point de vue technique, n'était cependant pas capable d'être utilisée dans la pratique courante. Elle ne permettait pas de différencier le bacille des autres formes microbiennes (bacillaires ou autres) qui se colorent dans ces conditions par la méthode primitive de Koch. Elle ne pouvait s'appliquer qu'à des produits purs, ne renfermant que le bacille tuberculeux.

EHRlich, bientôt après, publia une méthode spéciale qui devait rester fondamentale pour la coloration du bacille tuberculeux. Koch, d'ailleurs, l'expérimenta et l'adopta aussitôt. Ehrlich croyait, comme Koch, à l'importance de la présence des bases dans les solutions colorantes. Il avait remarqué que le violet de méthyle impur colorait mieux la substance amyloïde et les microbes, que le violet purifié. Il attribua cette impureté à l'aniline, et eut l'idée, considérant

pables de colorer le bacille de Koch, à condition de prolonger leur action sur le bacille pendant un temps suffisant.

(1) On a d'ailleurs montré ultérieurement que les bacilles colorés par les solutions aqueuses résistent très peu aux agents décolorants. Ils résistent d'autant moins que la coloration a été moins prolongée.

l'huile d'aniline comme une base, de l'ajouter aux agents colorants (1), et il conseilla de prendre au lieu du bleu de méthylène, colorant discret, le violet de méthyle ou la fuchsine, colorants énergiques. Il versait goutte à goutte l'eau d'aniline (2) dans une solution alcoolique saturée de violet de méthyle (violet de gentiane) ou de fuchsine, jusqu'à ce qu'il se produise à la surface du liquide des ondes moirées à reflet métallique persistant.

Cette technique méritait un tour de main spécial, et WEIGERT a rendu un grand service en précisant les doses et le titre des deux solutions :

Voici sa formule :

Eau anilinée.	100 cent cubes
Solution saturée dans l'alcool absolu de violet ou de fuchsine	11 —

EHRlich, en faisant agir cette solution colorante anilinée énergique sur les préparations, colorait tous les éléments de celle-ci, et cela d'autant plus facilement qu'ils sont plus réceptifs pour les colorants. Il fallait bien enlever l'excès de couleur. Pour cela Ehrlich choisit l'acide nitrique, qu'il dilua de deux fois son volume d'eau, l'acide nitrique au tiers agissant à froid.

Les acides minéraux décolorent en effet instantanément les bacilles si on les fait agir à chaud (3).

(1) Il ajoutait de ce fait ce qu'on appelle aujourd'hui un mordant.

(2) L'eau dissout environ 4 grammes pour 100 d'huile d'aniline. Pour obtenir l'eau anilinée, on mélange 5 grammes d'huile d'aniline à 100 d'eau, on agite et l'on filtre, pour avoir une solution claire.

(3) Nous nous sommes en effet assuré que les bacilles tuberculeux énergiquement colorés par l'action du Ziehl chaud pendant une demi-heure sont décolorés en une minute par l'acide nitrique au tiers, porté à l'ébullition.

EHRLICH recommande d'employer de l'acide nitrique bien pur, ne renfermant pas d'acide nitreux, car celui-ci décolore le bacille à la façon du chlore ou de l'iode (1).

Désormais, l'idée de la résistance du bacille à l'action des substances décolorantes commence à s'éveiller. Le bacille est coloré par les couleurs basiques, il résiste aux acides.

ORTH conseille pour décolorer l'acide chlorhydrique, qu'on dilue au 1/10^e, NEELSEN recommande l'acide sulfurique dilué au quart, moins brutal que l'acide nitrique.

RINDFLEISCH mélange l'acide nitrique à l'alcool, pour décolorer plus complètement. C'est lui qui le premier fait entrer l'alcool dans le temps de la décoloration du bacille, sans voir exactement le degré de résistance du bacille coloré à l'action décolorante de l'alcool.

PETRI choisit l'acide acétique, WATSON et CHEYNE emploient l'acide formique, CORNIL, ALVAREZ et TAVEL, l'acide oxalique.

Koch qui avait adopté l'idée de l'acido-résistance essaie de décolorer encore par l'alcool à 60° après l'action de l'acide. Les bacilles restent colorés et la réaction devient spécifique. Koch, avec Rindfleisch ont donc les premiers consacré la résistance des bacilles à l'action décolorante de l'alcool, l'*alcoolo-résistance*.

Dès lors, la réaction colorante du bacille est nettement fixée. Mais son interprétation est encore celle qu'a donnée Ehrlich. Pour lui, comme pour Koch, le bacille tuberculeux est per-

(1) L'iode décolore-t-il le bacille ? Il est très difficile de le dire. Nous avons décoloré par la teinture d'iode et l'alcool des préparations de bacilles dans les crachats. Il est impossible de rien distinguer ensuite sur la préparation.

méable aux bases et imperméable aux acides, fait particulier, personnel, qui lui permet de se comporter tout autrement que les autres éléments anatomiques dans une préparation (1). C'est pourquoi il accepte les couleurs basiques, et refuse l'action décolorante des acides. Quant à l'alcoolo-résistance, bien qu'elle soit utilisée dans la pratique, il n'est point question de l'interpréter.

Mais cette hypothèse est éphémère. ZIEHL, bientôt, montre qu'on réussit aussi bien à colorer le bacille de Koch quand on additionne directement le liquide d'Ehrlich d'acide acétique.

Le liquide est une solution acide.

Ziehl va plus loin. Il remplace dans le liquide d'Ehrlich l'huile d'aniline par des substances diverses : la résorcine ou l'acide pyrogallique, et colore cependant très bien le bacille, qui résiste ensuite à l'action décolorante de l'acide nitrique au tiers. Ces considérations le conduisent, après divers essais, à préconiser le liquide colorant, usité presque exclusivement aujourd'hui (2) :

Eau phéniquée à 5 0/0	100
Solution saturée alcoolique de fuchsine	10

Remarquons en passant que ce n'est pas particulièrement l'emploi de la solution *phéniquée* de Ziehl qui pouvait renverser l'hypothèse d'Ehrlich, l'acide phénique n'étant pas chimiquement un acide (3). L'objection s'appuie sur l'emploi de la solution acétique.

C'est LICHTENSTEIN et GIACOMINI qui, indépendamment l'un

(1) Nous verrons que certains autres éléments sont acido-résistants.

(2) Le liquide de Ziehl offre cet avantage de pouvoir être conservé tandis que celui d'Ehrlich doit être préparé extemporanément si l'on veut avoir un résultat satisfaisant.

(3) Prior a montré que le liquide de Ziehl offre une réaction neutre.

de l'autre, arrivent au véritable point caractéristique de la colorabilité du bacille tuberculeux.

Ils démontrent que celui-ci n'exige ni alcali, ni acide pour prendre la matière colorante : il se laisse parfaitement pénétrer par *une simple solution aqueuse*, pourvu que celle-ci agisse très longtemps. Mais, contrairement à tous les autres microbes, une fois coloré, le bacille de Koch résiste à la décoloration par les acides minéraux forts. *Donc, la caractéristique du bacille de Koch est non pas de ne se colorer que dans les liquides rendus alcalins, mais de ne pas se décolorer sous l'influence des acides minéraux.*

On a pu remplacer l'aniline dans le liquide d'Ehrlich par une foule d'autres substances qui sont tantôt neutres, tantôt alcalines : PRIOR a employé l'essence de térébenthine, L. FRAENKEL, de l'orthotoluidine, BRIEGER, du thymol, WEIGERT, de l'ammoniaque, SABLÉ, du borax, sans que le bacille souffre dans sa colorabilité.

PETRI colore par une simple solution aqueuse chaude, mais il emploie comme agent décolorant l'acide acétique, qui laisse les bacilles parfaitement colorés.

BAUMGARTEN revient ensuite sur l'acido-résistance, qui pour lui comme pour LICHTHEIM et GIACOMINI, est pour le bacille de Koch le caractère fondamental de sa coloration.

EHRLICH se rallie à cette conception, et essaie de mesurer la durée de la résistance à la décoloration. Les bacilles, colorés avec la solution anilinée de fuchsine, peuvent être placés pendant 24 heures et même davantage dans une solution concentrée de bisulfite de soude sans se décolorer (2). Mais

(1) Nous verrons plus tard tout l'intérêt de cette technique.

(2) Le bisulfite de soude est un agent décolorant bien inférieur à l'acide nitrique au tiers, ainsi que nous nous en sommes assuré. Cette expé-

l'utilité d'un mordant est cependant démontrée par ce fait que, coloré avec les simples solutions aqueuses, le bacille se décolore au bout d'une demi-heure dans le bisulfite de soude.

STRAUS expérimente comparativement les solutions colorantes anilénées et les solutions aqueuses. Le bacille de Koch se colore très bien avec les solutions aqueuses, et d'autant mieux que celles-ci agissent plus longtemps. Mais, ainsi coloré, il perd immédiatement la couleur, si on le décolore par l'eau en ébullition, tandis que lorsqu'on l'a coloré par la fuchsine anilinée, il résiste en partie à l'action décolorante de l'eau bouillante pendant une seconde.

KUHNE, puis BORREL, ont préconisé une méthode de coloration particulière, dans laquelle, après coloration par le Ziehl agissant à chaud, on traite la préparation par une solution de chlorhydrate d'aniline à 2 pour 100 puis par l'alcool absolu.

GIBBES colore à chaud par un mélange aniliné de bleu de méthylène et de fuchsine, et décolore seulement par l'alcool, le bacille prend dans ces conditions électivement la couleur rouge.

NAKANISCHI a appliqué sa méthode de coloration vitale au bacille tuberculeux et il prétend l'avoir coloré.

MULLER emploie comme décolorant l'eau oxygénée, et les bacilles résistent pendant une heure et plus à l'action décolorante.

DORSET enfin préconise comme agent colorant le Sudan III. Ce colorant est électif pour les matières grasses et Dorset pense ainsi démontrer la présence de corps gras dans le protoplasme du bacille de Koch. Nous reviendrons sur la valeur de cette méthode.

l'expérience d'Ehrlich ne prouve rien dans la question de l'acido-résistance. Elle n'a de valeur que pour mettre en relief l'utilité d'un mordant dans le colorant.

CHAPITRE II

ÉTUDE CRITIQUE ET EXPÉRIMENTALE DE LA COLORATION DU BACILLE DE KOCH

L'historique qui précède nous montre comment, petit à petit, on est arrivé à établir une méthode de coloration particulière, et à connaître les détails des réactions colorantes du bacille de Koch. Pourtant dans ces données éparses, bien des notions n'ont pas été coordonnées. Lorsqu'on croyait le bacille tuberculeux le seul de tous les microbes qui se colorât de la façon que nous avons vue, il était indifférent de savoir avec précision les particularités de sa colorabilité. Le fait que d'autres microbes, de jour en jour plus nombreux, sont signalés sous le qualificatif d'acido-résistants, nécessite que l'on soit mieux renseigné sur la colorabilité du bacille tuberculeux.

D'après les travaux qui précèdent, nous voyons que le bacille de Koch est un microbe difficile à colorer. On y réussit cependant, même avec les solutions colorantes aqueuses, à condition qu'on prolonge l'immersion dans celui-ci pendant plusieurs heures.

La réussite est plus certaine en additionnant le colorant d'une substance comme l'aniline, la potasse, le phénol, etc.

Quel est le rôle de cette substance ? Ce n'est pas parce qu'elle est basique ou acide, puisque base ou acide agissent de même ; elle paraît agir comme « mordant ».

Une fois coloré, le bacille se comporte autrement que tous

les autres éléments (1), il résiste à l'action décolorante des acides minéraux dilués, des acides organiques, l'alcool absolu, l'eau bouillante, l'eau oxygénée, le bisulfite de soude... Mais il résiste d'autant mieux qu'il a été plus fortement coloré, ou plutôt qu'on a utilisé pour le teindre une couleur plus énergique ou dont l'action s'est produite à chaud.

Dans quelle mesure exacte résiste-t-il à l'action des agents décolorants ? Ceux-ci parviennent-ils à le décolorer au bout d'un certain temps ?

Telle est la question que nous tenons surtout à préciser, afin d'avoir en main une méthode qui nous permette de différencier à coup sûr le bacille tuberculeux des autres microbes susceptibles de résister pendant un certain temps à l'action décolorante de certains acides.

Nous ne pouvions étudier la résistance à l'action décolorante des diverses substances proposées par les bactériologistes, sans être auparavant fixé sur les substances colorantes. N'avons-nous pas appris, en effet, que les bacilles se décoloraient d'autant plus facilement qu'ils ont été soumis à l'action d'un colorant moins énergique, ainsi que l'ont montré Straus avec l'eau bouillante, et Ehrlich avec le bisulfite de soude.

Il nous faut donc étudier successivement :

1° Les différents colorants ;

2° Les différents décolorants ;

3° Les méthodes complexes ou différentes de la méthode acido-résistante.

Avant d'exposer nos expériences et les résultats obtenus, nous devons indiquer quel matériel nous avons utilisé. Nous avons employé :

(1) Il y a des exceptions sur lesquelles nous reviendrons.

1° Des bacilles tuberculeux humains venant de source humaine, cultivés sur pomme de terre glycérinée, sur jaune d'œuf gélosé, sur sang gélosé glycérimé, milieux préconisés par MM. Bezançon et Griffon, ainsi que des cultures en voile, à la surface du bouillon glycérimé. Nous avons utilisé plusieurs races, venant les uns de méningites tuberculeuses (1), les autres, de pleurésie tuberculeuse (2).

Nous avons aussi employé des cultures de bacille tuberculeux bovin, mises gracieusement à notre disposition par M. Binot.

Nos cultures étaient toujours âgées d'au moins un mois, parfois davantage, Marmoreck ayant signalé que dans les cultures toutes jeunes certains bacilles n'auraient pas encore acquis la propriété acido-résistante.

Mais, nous avons parallèlement et le plus souvent utilisé des bacilles contenus dans les crachats de phtisiques, et de préférence des crachats très bacillifères, afin qu'il soit plus facile et plus probant de retrouver les bacilles sur nos préparations. Les crachats que nous avons employés renfermaient en moyenne de 20 à 50 bacilles par champ microscopique.

C'est à dessein que nous avons choisi les bacilles des crachats de phtisiques : nous nous proposons en effet de chercher une méthode de coloration qui permette de distinguer le bacille de Koch des autres bacilles acido-résistants. Cette diffé-

1 Les bacilles tuberculeux venant de méningites, ont été cultivés par l'ensemencement direct du liquide céphalo rachidien sur le sang gélosé glycérimé (Procédé Bezançon et Griffon).

2 Les bacilles tuberculeux venant de pleurésie tuberculeuse, ont été isolés par l'ensemencement direct sur la pomme de terre à l'eau glycérimée à 10 0/0 selon le procédé Vetter.

renciation n'a qu'un intérêt très médiocre dans les cultures. C'est au contraire dans les milieux où le clinicien a intérêt à rechercher le bacille de Koch, qu'il faut étudier ses caractères, c'est-à-dire dans les excréta ou les secréta normaux ou pathologiques de l'homme. C'est là que l'on est exposé à rencontrer des bacilles acido-résistants en imposant pour le bacille tuberculeux. C'est là que nous pourrions appliquer à ces bacilles accidentellement acido-résistants les mêmes méthodes que nous devons étudier sur le bacille tuberculeux.

Peu nous importe, pour le but que nous poursuivons, que certaines races de bacilles de Koch acclimatées à vivre d'une façon homogène dans le bouillon comme celles qu'a obtenues Ferran, Auclair, perdent plus ou moins complètement leur propriété acido-résistante. Ce sont des races tératologiques, de véritables monstres obtenus avec peine (1).

Peu nous importe même qu'il puisse exister dans les crachats des phtisiques, ainsi que Ferran l'a soutenu, des bacilles tuberculeux qui ne seraient pas acido-résistants. Cette hypothèse toute gratuite réclame des faits qui la démontrent. D'ailleurs ces bacilles, s'ils ne sont pas acido-résistants, n'ont pas à être différenciés des bacilles acido-résistants vrais ou faux.

§ 1. — Colorants.

Nous avons expérimenté :

1^o Une matière colorante agissant à froid en solution aqueuse : le bleu de Unna ;

(1) Il est d'ailleurs à noter que la race de bacille homogène d'Arloing et Courmont que nous avons à notre disposition n'a jamais perdu sa pro-

2° Une matière colorante agissant à froid, en solution aniliné additionnée d'un mordant, le violet de gentiane aniliné, et nous avons expérimenté à ce sujet la réaction de Gram ;

3° Une matière colorante agissant à chaud, additionnée d'un mordant différent : l'acide phénique (liquide de Ziehl), l'aniline (liquide d'Ehrlich).

Nous indiquons première, deuxième préparation, etc. En réalité nous avons répété un très grand nombre de fois chacun de ces essais. Nous avons fait par exemple, non pas sur un échantillon, mais sur plusieurs, la série des réactions bleu de Unna, Gram, etc.

1° **Colorant aqueux : le bleu de Unna.** — *Crachats renfermant 20 à 50 bacilles de Koch par champ microscopique, des chaînettes de streptocoques, du paratétragène zoogléique, etc.*

1^{re} Préparation (témoin) :

Liquide de Ziehl à chaud	1/4 d'heure
Acide nitrique ou 1/3	5 minutes
Alcool absolu	2 »
Bleu de Unna	5 »
Alcool-absolu	2 »

Les bacilles de Koch sont nettement colorés en rouge, les streptocoques et les paratétragènes en bleu.

2^e Préparation :

Bleu de Unna	10 minutes
Alcool absolu	2 »

priété acido résistante.

Avec M. Bezançon nous avons également obtenu une race homogène de bacille de Koch humain, et bien que nous la conservions depuis quatre années elle n'a jamais perdu sa propriété acido-résistante.

On ne voit pas de forme bacillaire sur la lamelle, les streptocoques et les paratétragènes sont bien colorés en bleu foncé ainsi que les noyaux des cellules (1).

Nous laissons alors le bleu de Unna agir une heure sur une préparation des mêmes crachats.

3° *Préparation :*

Bleu de Unna	1 heure
Alcool absolu	2 minutes

Nous avons le même résultat qu'avec la précédente. Pas de bacilles visibles.

2° **Colorant additionné d'un mordant :** le violet de gentiane phéniqué. — Avec les mêmes crachats nous traitons une lamelle par la méthode de Gram.

4° *Préparation :*

Violet de gentiane anilé.	5 minutes
Lugol.	2 »
Alcool absolu	jusqu'à décoloration
Eosine.	2 minutes

Les streptocoques et les paratétragènes sont colorés en violet intense ; on voit des formes bacillaires mal colorées en violet clair, quelquefois granuleuses. Il est en tout cas impossible d'affirmer qu'il s'agit de bacille de Koch.

Nous faisons une préparation avec une culture de bacille tuberculeux bovin, de la même façon.

(1) Nous avons fait des préparations analogues (sur des coupes renfermant des bacilles) en décolorant à l'alcool à 90° et sur d'autres lames avec la *glycerinaether-mischung* ; il n'y a pas de bacilles visibles colorés en bleu.

5^e Préparation. — *Bacilles tuberculeux bovins.*

Violet de gentiane aniliné 10 minutes

Lugol 2 »

Alcool absolu jusqu'à décoloration

Montage au baume après dessiccation.

Les bacilles apparaissent nettement, les uns colorés en violet foncé, les autres, plus nombreux, en violet pâle. d'autres sont très clairs. La plupart sont granuleux.

Le bacille de Koch se colore donc difficilement par les couleurs aqueuses. Après une heure de séjour dans le bleu polychrome de Unna, il n'est pas encore coloré.

Mais il se laisse volontiers pénétrer, et cela même à froid, par les couleurs additionnées d'un mordant, comme le violet de gentiane phéniqué, en un temps relativement assez court, 5 à 10 minutes.

Coloré dans ces conditions, il résiste à l'action décolorante, à vrai dire légère, de l'iode (1) dilué et de l'alcool absolu.

Nous n'avons pas cherché ici pendant combien de temps le bacille ainsi coloré pouvait résister à la décoloration par l'alcool absolu. La question n'a qu'un intérêt médiocre. La réaction que nous expérimentons est la réaction de Gram, que tout bactériologiste pratique de la même façon, c'est-à-dire qu'après l'action de la solution iodo-iodurée de Lugol, on traite la préparation par l'alcool absolu, jusqu'à ce que celui-ci n'entraîne plus de trace de couleur violette. Dans ces conditions, nous pouvons conclure que *traité par la méthode habituelle le bacille de Koch « garde le Gram ».*

Il le « garde » mal pour certains de ses éléments, mais peut-

(1) L'iode, dans la réaction de Gram, n'est pas considéré comme décolorant, mais nous rappelons qu'Ehrlich a considéré l'iode (et le chlore) comme un décolorant énergique du bacille tuberculeux.

être serait-il plus coloré si l'on faisait agir le violet plus longtemps. Nous n'avons pas voulu expérimenter ces méthodes, qui n'ont aucune importance pour le but que nous nous sommes imposé.

3° **Colorants additionnés d'un mordant agissant à chaud.** — Il était plus utile de rechercher si le liquide colorant est plus énergique, lorsqu'il est additionné d'aniline que lorsqu'il est additionné d'acide phénique, en d'autres termes si le liquide aniliné d'Ehrlich est supérieur au liquide phénique de Ziehl.

Si l'on emploie le Ziehl communément aujourd'hui pour colorer le bacille de Koch, c'est parce que la solution de fuchsine phéniquée se conserve bien plus longtemps que le liquide d'Ehrlich. On peut le préparer à l'avance, tandis que la solution de fuchsine anilinée d'Ehrlich doit être préparée extemporanément, ce qui impose une perte de temps considérable.

Nous faisons deux préparations avec les mêmes crachats tuberculeux ; l'une est traitée par le liquide de Ziehl de la façon suivante :

Ziehl à chaud	15 minutes
Acide nitrique au 1/3.	1 heure (1).
Bleu de Unna	5 minutes.
Alcool absolu	jusqu'à décoloration

La préparation ne présente pas de formes bacillaires colorées en rouge, ni même en bleu. Nous reviendrons à plusieurs reprises sur cette technique, car il y a plusieurs conclusions à tirer de ce résultat.

(1) Nous décolorons ici pendant une heure parce que c'est une limite à laquelle le bacille de Koch est presque sûrement décoloré avec l'acide nitrique au 1/3.

Ici nous voulons seulement retenir que décolorées pendant 1 heure par l'acide nitrique au tiers, les bacilles contenus dans la préparation n'ont pas gardé la fuchsine phéniquée.

La seconde préparation est traitée par le liquide d'Ehrlich, préparé extemporanément en versant de l'eau anilinée saturée dans la solution alcoolique saturée de violet de gentiane.

Liquide d'Ehrlich à chaud. 15 minutes.

Acide nitrique au 1/3 1 heure.

Les bacilles de Koch, un peu gonflés, apparaissent nettement colorés en violet (1).

Ainsi donc, décolorés pendant une heure par l'acide nitrique au tiers, c'est-à-dire dans les mêmes conditions que dans la préparation précédente, les mêmes bacilles, colorés pendant un temps égal, restent colorés par le violet.

La conclusion est facile à poser : le bacille de Koch est plus acido-résistant lorsqu'il a été traité par le liquide d'Ehrlich que lorsqu'on l'a coloré par le liquide de Ziehl, le temps de coloration étant égal.

Mais cela ne signifie pas que l'on doive préférer le liquide d'Ehrlich au liquide de Ziehl, dans les besoins courants de la clinique. La fuchsine phéniquée suffit à permettre de différencier le bacille de Koch, et son emploi est incomparablement plus pratique, puisqu'on n'est pas obligé de le préparer chaque fois que l'on veut rechercher le bacille tuberculeux dans une préparation.

Le mode de préparation du liquide de Ziehl a une grosse

(1) Rappelons que les deux préparations ont été faites avec les mêmes crachats et cette durée n'a de valeur que par comparaison. Un autre échantillon pourrait être moins résistant avec le violet aniliné ; il le serait encore moins avec le Ziehl.

importance pour la coloration du bacille. Si ce liquide est mal préparé, il n'est pas mordant, et le bacille ne se colore pas, ou s'il se colore, il ne résiste plus que faiblement à l'action décolorante de l'acide nitrique et il devient nécessaire de « ne pas trop décolorer ». Or cette technique expose justement à laisser colorés des bacilles vulgaires.

Le Ziehl, mal préparé, agit comme une solution aqueuse, et nous savons qu'il suffit de quelques minutes pour que les microbes vulgaires soient pénétrés par les solutions colorantes aqueuses, tandis que le bacille de Koch exige plusieurs heures pour se colorer dans ces conditions. Le Ziehl, dans ce cas, colorera mieux les bacilles vulgaires que le bacille de Koch ; puis si l'on fait une décoloration hâtive, le bacille de Koch risquerait de se décolorer plus facilement puisqu'il a été mal imprégné par la couleur tandis que les bacilles vulgaires soumis à l'action trop longue pour eux — trop courte pour le bacille de Koch — du colorant deviendront acido-résistants.

Nous nous sommes aperçu de ce fait de la façon suivante. Ayant trouvé dans des crachats tuberculeux des bacilles nombreux, nous pratiquons de nouveaux examens sur les mêmes crachats avec un autre échantillon de liquide de Ziehl. A notre grand étonnement nous ne retrouvons pas de bacilles ; or le second échantillon du liquide de Ziehl avait été préparé en versant dans une solution d'acide phénique à 5 0/0 une solution de fuchsine dans l'alcool absolu ; cette dernière a elle-même été faite, en mettant la fuchsine dans une bouteille remplie d'alcool absolu puis en agitant.

Cette technique est mauvaise, il faut préparer le liquide de Ziehl de la façon suivante, telle qu'elle a été instituée primitivement, mais qui est depuis si souvent négligée. Le liquide

de Ziehl, ainsi préparé, constitue le meilleur colorant *pratique* pour rechercher le bacille de Koch.

On broie dans un mortier 1 gramme de fuchsine rubine dans 10 centimètres cubes d'alcool absolu ; on ajoute 5 grammes d'acide phénique neigeux en broyant toujours le liquide puis, par petites portions, en continuant de remuer, 60 centimètres cubes d'eau distillée environ, on verse en un flacon, et on rince le mortier avec 40 centimètres cubes d'eau distillée, que l'on ajoute au colorant qu'on a déjà versé dans le flacon : on laisse reposer pendant 24 heures, puis l'on filtre.

C'est avec ce colorant, préparé ainsi, que nous avons fait toutes nos expériences de décoloration (1).

§ 2. — Agents décolorants.

L'acide nitrique, dilué au tiers, est le premier décolorant que nous avons employé.

Nous colorons à chaud pendant dix minutes une préparation de bacilles de Koch (crachats, cultures, exsudats) et nous décolorons dans un bain d'acide nitrique dilué au tiers. S'agit-il d'une préparation de bacilles venant de cultures, les bacilles sont nettement colorés en rouge ; s'agit-il d'un frottis de crachats, les bacilles tuberculeux sont nettement rouges, les autres éléments de la préparation sont à peine rosés ou tout à fait incolores, suivant que l'action de l'acide nitrique a été plus ou moins prolongée. Nous reviendrons sur ce fait. Retenons seulement que l'acide nitrique agissant par exemple 2 minutes laisse les bacilles parfaitement colorés.

(1) Nous avons cru inutile d'expérimenter les autres mordants préconisés comme l'orthotoluidine, l'acide acétique, etc.

Ehrlich a déjà insisté sur le fait que les acides minéraux, notamment l'acide nitrique, décolorent instantanément le bacille de Koch, s'ils agissent *à chaud*. Nous nous sommes assuré en effet qu'une préparation de crachats renfermant des bacilles de Koch traités par le Ziehl se décolore complètement lorsqu'on fait agir l'acide nitrique au tiers à l'ébullition pendant deux minutes. Si l'on examine une préparation ainsi traitée au microscope, on ne voit que des débris informes absolument incolores.

De cette expérience nous pouvons tirer un enseignement pratique : lorsqu'après avoir traité la préparation par le Ziehl à chaud on veut décolorer par l'acide, il faut attendre quelques instants, de façon à laisser refroidir la lame.

L'**acide sulfurique**, employé par Neelsen, se comporte sensiblement comme l'acide nitrique. Toute la préparation est décolorée à l'exception des bacilles de Koch, qui restent nettement rouges. En deux minutes, le « fond » est décoloré.

L'**acide chlorhydrique**, conseillé par Orth, doit être dilué au 1/100 (1). Nous avons employé la technique suivante :

Crachats tuberculeux :

Ziehl.	10 minutes.
HCl au 1/10.	10 »
Alcool absolu	2 »

Tous les éléments de la préparation sont décolorés, seul le bacille de Koch est très nettement rouge.

Ces trois acides ont à notre avis une égale valeur. Leur

(1) C'est Orth, rappelons-le, qui conseille de diluer l'acide chlorhydrique au 1/10. Il s'agit ici de la dilution aqueuse et non de la dilution alcoolique.

action suffisamment prolongée décolore tout ce qui n'est pas bacille tuberculeux dans une préparation faite avec des crachats.

L'acide acétique, conseillé par Petri, a la même propriété. Mais il est certainement moins énergique que les acides minéraux. Nous l'avons employé pur, le bacille de Koch est resté franchement rouge, après une décoloration de 10 minutes. Les autres éléments de la préparation sont rouges également, mais la préparation est très altérée, les cellules à peine reconnaissables, bien que rouges.

L'acide tartrique à 10 0/0 serait, selon Hauser, moins brutal que les acides minéraux. Il pourrait agir lentement sans altérer le bacille de Koch. Une longue décoloration d'une demi-heure ne parviendrait pas à décolorer celui-ci, tout en laissant sa forme intacte.

Nous le croyons volontiers. Avec l'acide tartrique à 10 0/0 agissant une demi-heure, les bacilles restent bien colorés, mais toute la préparation est également rouge. Nous avons alors appliqué une solution saturée pendant 10 minutes. Le fond reste rose, et le bacille quoique bien rouge est altéré.

L'acide citrique (Hauser) à 5 ou 10 0/0 offrirait les mêmes avantages que l'acide tartrique. Nous lui reprochons les mêmes inconvénients. Agissant pendant une demi-heure à 10 0/0, il laisse toute la préparation franchement rouge. En solution saturée, agissant pendant 10 minutes, il déteint et transforme en boules tous les éléments de la préparation, mais ces éléments restent tous rouge intense.

L'acide lactique à 5 0/0 (Hauser) agit de la même façon.

Nous avons traité une préparation de crachats par l'acide lactique pur pendant un quart d'heure et la préparation, res-

tée complètement rouge, ne nous a pas permis de retrouver les bacilles de Koch.

Lesieur a proposé d'employer l'alcool additionné d'acide lactique à 2 0/0.

L'**acide formique** (Watson, Cheyne) serait un décolorant discret. Sans doute il se comporte comme les autres acides organiques, mais nous ne l'avons pas expérimenté.

L'**acide oxalique** (Cornil, Alvarez et Tavel) offre des inconvénients identiques aux précédents. Cependant il n'altère pas les éléments anatomiques. Nous avons fait agir une solution saturée aqueuse pendant 10 minutes après coloration par le Ziehl, et nous n'avons pas observé de décoloration. Tous les éléments restent également teints en rouge.

L'**acide picrique** en solution saturée n'a qu'une action décolorante médiocre. Après une durée de 10 minutes de décoloration, la préparation reste encore fortement colorée. — L'« acide picrique » n'est d'ailleurs pas un acide, chimiquement parlant, — et l'on voit bien qu'on versant la solution sur la lame, au lieu d'observer comme avec les autres acides la disparition de la teinte rouge, qui réapparaît lorsqu'on lave à l'eau, le frottis reste nettement rouge.

Müller a conseillé récemment d'employer le **percarbonate de potasse** ($K^2C^2O^6$) à 5 ou 10 0/0 comme agent décolorant. Il laisse agir la solution pendant un quart d'heure, puis lave à l'eau et recolore le fond en bleu. Il dit que les bacilles peuvent rester dans le bain décolorant durant une heure sans se décolorer.

Le principe de cette méthode repose sur l'action décolorante des corps oxydants. Il recommande comme succédané du percarbonate de potasse l'eau oxygénée, à laquelle on ajoute au

moment d'en faire usage une petite quantité de carbonate de soude ou de potasse. Les préparations peuvent rester également une heure dans l'eau oxygénée sans se décolorer, selon l'auteur.

Nous avons employé ce procédé, qui ne nous semble pas devoir supplanter celui de l'acide nitrique. Nous avons laissé agir l'eau **oxygénée** pendant 2 heures sur une préparation de bacilles de Koch, colorée par le Ziehl à chaud pendant une demi-heure. Sans doute nous avons constaté que les bacilles restent franchement rouges, mais tous les autres éléments de la préparation gardent une teinte rose plus ou moins foncée.

Il nous semble que l'eau oxygénée décolore aussi peu le bacille de Koch que les autres éléments, lorsqu'on a pratiqué une coloration énergique.

Le **bisulfite de soude** était regardé par Ehrlich comme un agent décolorant de premier ordre. Il peut agir pendant 24 heures sur les bacilles de Koch sans les décolorer.

Nous avons expérimenté le bisulfite de soude. Sur une première préparation, colorée par le Ziehl chaud pendant une demi-heure, nous faisons agir le bisulfite de soude en solution à 20/0, pendant un quart d'heure. La préparation est tout entière rouge et nous distinguons même des pneumocoques avec leur capsule *colorés franchement en rouge*. Cette méthode, susceptible de laisser des pneumocoques colorés, doit être rejetée. Nous avons dû prolonger la décoloration pendant 2 heures, et si les bacilles de Koch semblaient plus rouges que les autres microbes et les éléments de la préparation, le tout était cependant nettement rosé.

L'**iode** (selon Ehrlich) agirait comme un décolorant énergétique du bacille de Koch. Nous savons que l'iode dans la

solution de Lugol agit plutôt comme un fixateur électif de la couleur sur les bacilles.

Nous avons traité des bacilles de Koch colorés par le Ziehl avec de la teinture d'iode pendant 10 minutes, nous n'avons retrouvé sur la préparation que des détritits méconnaissables au microscope. Nous ne doutons pas de l'affirmation d'Ehrlich, mais nous tenons l'iode comme inemployable dans la pratique courante.

Le **chlorure de sodium**, en solution à 20 0/0, a été employé par Stolz, nous verrons dans quelles conditions. Nous avons traité des bacilles de Koch de crachat, colorés par le liquide de Ziehl à chaud pendant 10 minutes, par une solution d'eau salée à 20 0/0 durant 2 heures. Au bout de ce temps tous les éléments de la préparation étaient encore colorés en rouge : bacilles, chaînettes de streptocoques. Nous n'avons pas poussé plus loin la « décoloration » qui est si peu élective.

Tous ces agents décolorants, à l'exception de l'iode (?) et de l'acide azotique bouillant, laissent intacte la coloration du bacille de Koch lorsque celui-ci a été imprégné par la fuchsine phéniquée pendant 10 minutes à chaud.

Mais vis-à-vis des autres éléments de la préparation, il en est autrement. Les uns décolorent complètement les autres éléments, ils sont pour ainsi dire électifs pour le bacille de Koch, ce sont les acides nitrique au tiers, azotique au quart, chlorhydrique au dixième.

Les autres laissent une teinte rougeâtre plus ou moins foncée sur tous les autres éléments, lorsqu'ils agissent même pendant un temps assez long comme le bisulfite de soude, l'eau oxygénée.

Certains, s'ils agissent assez longtemps comme l'acide tartrique, ne laissent qu'un nuage rosé, — encore faut-il qu'ils agissent au moins 10 minutes ; d'autres laissent sur les cellules une teinte rosée, et même franchement rouge : des microbes vulgaires comme le pneumocoque, le streptocoque demeurent colorés en rouge.

Ces agents décolorants ne sont pas électifs dans la décoloration d'une préparation contenant du bacille de Koch ; ils décolorent tout fort peu, et rien complètement. Ce sont les acides picrique, formique, acétique, oxalique, tartrique, lactique, citrique, l'eau oxygénée, le bisulfite de soude, le chlorure de sodium.

§ 3. — Autres méthodes.

Quelques autres méthodes de coloration élective du bacille de Koch méritent de retenir notre attention, car c'est avec certaines d'entre elles que l'on a coloré des microbes qui sont très différents du bacille tuberculeux, comme les bacilles de Fränkel, et les bacilles acido-résistants que nous avons rencontrés dans les voiles développés à la surface des épanchements pleuraux.

Méthode de Fränkel. — Fränkel colore à chaud au moyen de la fuchsine ou du violet aniliné.

C'est le temps de la décoloration qui diffère dans sa méthode. Il décolore et recolore en même temps au moyen de l'acide nitrique alcoolique tenant en dissolution du bleu de méthylène ou de la vésuvine, suivant qu'il a coloré par la fuchsine ou le violet de gentiane.

Voici ses formules exactes :

1 ^o Alcool	50 grammes
Eau.	30 —
Acide nitrique	20 —
Bleu de méthylène	excès.
Agiter et filtrer.	
2 ^o Alcool	70 grammes
Acide azotique	30 —
Vésuvine.	q.s.

Nous n'avons pas expérimenté la méthode de Frænkel sur le bacille de Koch des crachats : la décoloration simultanée par l'alcool et l'acide nitrique réalisant de tout point la méthode rigoureuse de décoloration du bacille de Koch. Mais nous pensons qu'il faut laisser agir, dans les cas douteux, la solution décolorante pendant un temps suffisant.

Méthode de Gabbet. — Cette méthode, décrite autrefois par Gabbet, a été récemment reprise par Jousset pour la recherche du bacille de Koch dans les exsudats pleuraux.

Gabbet colore par le Ziehl ordinaire.

Il décolore et recolore simultanément par l'acide sulfurique au quart additionné de 1 à 2 grammes p. 100 de bleu de méthylène.

Nous avons appliqué bien des fois la méthode de Gabbet à des crachats tuberculeux, en colorant d'abord pendant une demi-heure par le Ziehl. Les bacilles de Koch restent bien colorés, en rouge, le fond est rosé, ou bleuté, suivant qu'on a poussé plus ou moins la décoloration.

Il n'est pas douteux que par la méthode de Gabbet on ne puisse réussir à colorer le bacille de Koch si l'on colore un temps suffisant.

Méthode de Gibbes. — Nous ne citons cette méthode que pour être complet.

Elle est originale par ce fait que deux colorants agissant simultanément, l'un d'eux seul est accepté par le bacille de Koch selon Gibbes.

Voici la formule de la solution de Gibbes :

Fuchsine	2 grammes
Bleu de méthylène.	1 »
Broyer ensemble dans un mortier :	
Aniline.	3 grammes
Alcool absolu	45 »
Eau distillée	150 cent. cubes.

Gibbes colore à chaud et décolore simplement par l'alcool absolu.

Procédé de Kühne-Borrel. — Cette méthode est bien connue. On colore à chaud ou à froid pendant 24 heures pour les coupes) par le Ziehl phéniqué. On traite la préparation par une solution de chlorhydrate d'aniline à 2 0 0 pendant quelques minutes, puis on décolore énergiquement par l'alcool absolu. Le bacille est coloré en rouge.

Ce procédé nous a toujours donné de bons résultats pour la coloration du bacille de Koch dans les crachats.

Procédé de Spengler. — Kühne (1) a depuis longtemps conseillé de recolorer les préparations de crachats par l'acide picrique, afin que la teinte jaune permette de mettre plus facilement au point.

Spengler, tout récemment, a conseillé la méthode suivante que nous avons expérimentée. Les différents temps sont les suivants :

1^o Coloration sur lamelle couvre-objet à chaud, en chauffant très discrètement.

(1) Cité par Straus.

2° On traite les préparations pendant quelques secondes par l'alcool picriqué.

Solution saturée aqueuse d'acide picrique. . . . 60

Alcool absolu 40

3° Lavage, à trois reprises différentes, par à l'alcool 60°.

4° Décoloration par l'acide nitrique au 1/6^e (soit 15 0/0) en solution aqueuse.

5° Lavage, à l'alcool à 60°, aussi longtemps qu'il est nécessaire pour qu'il ne reste plus trace de couleur.

6° Lavage par la solution picriquée.

Par cette méthode les bacilles de Koch sont très bien colorés en rouge, le fond est jaune (1). Spengler pense par cette méthode différencier de gros bacilles longs granuleux (bacilles bovins) et de petits bacilles fins prenant la couleur d'une façon uniforme (bacilles humains).

Méthode de Quensel. — Quensel revient à la technique d'Ehrlich, et colore par le violet de gentiane aniliné ; il décolore soit successivement par l'acide nitrique et par l'alcool, soit en un seul temps par l'alcool chlorhydrique à 10 0/0. Il recolore ensuite à l'auramine.

Méthode de Dorsel. — Toute différente est cette méthode. Elle est fondée sur la colorabilité de la graisse par le sudan III.

On colore pendant 5 à 10 minutes dans une solution saturée de sudan III dans l'alcool à 80°.

On lave ensuite avec l'alcool à 70° plusieurs fois renouvelé pendant 5 minutes.

(1) Cette méthode donne, comme celle de Kühne-Borrel, d'excellentes colorations pour les coupes histologiques renfermant des bacilles.

On décolore ensuite par l'un des acides minéraux (nitrique, sulfurique ou chlorhydrique) dilué.

Cowie, qui a expérimenté cette méthode, n'a pas pu réussir à colorer le bacille tuberculeux.

Nous l'avons essayée, et jamais nous n'avons pu réussir aussi bien dans les crachats que sur les cultures, même en prolongeant l'action du sudan pendant 24 heures.

CHAPITRE III

ÉTUDE DE L'ACIDO-RÉSISTANCE ET DE L'ALCOOLO-RÉSISTANCE

§ 1. — Mensuration de l'acido-résistance.

Nous avons vu que parmi les agents décolorants proposés pour différencier le bacille de Koch dans les préparations, seuls les acides minéraux nitrique, sulfurique et chlorhydrique offraient l'avantage, quand on les laisse agir jusqu'à ce que, à l'œil nu, la préparation soit complètement décolorée, de laisser exclusivement le bacille de Koch coloré en rouge par la fuchsine.

Il est nécessaire de connaître la limite de décoloration du bacille de Koch, en d'autres termes de savoir au bout de combien de temps l'action de ces acides minéraux dilués entraîne la décoloration du bacille.

Comme nous l'avons déjà fait remarquer, nous avons été conduit à cette recherche parce que nous avons rencontré des bacilles acido-résistants dans des liquides pleuraux.

Il était intéressant de savoir dans quelle mesure ces bacilles résistaient à l'action décolorante des acides minéraux, mais afin de pouvoir comparer avec l'acido-résistance du bacille de Koch, il fallait d'abord être fixé sur le degré de cette propriété chez le bacille tuberculeux.

Cette étude n'a jamais été faite systématiquement, croyons-

nous. Nous avons choisi, pour le faire, des crachats bacillifères, que nous avons colorés à chaud par la fuchsine phéniquée pendant un temps égal rigoureusement mesuré, *dir* minutes. Nous avons décoloré ensuite toutes les préparations faites avec les mêmes crachats identiquement colorés, respectivement pendant 30 secondes, 1 minute, 2 minutes, etc.

Nous avons choisi comme agent décolorant l'acide nitrique au tiers, pour cette mensuration, parce que c'est celui que nous avons employé comme agent décolorant dans nos recherches précédentes.

Ayant coloré un temps égal un très grand nombre de préparations de crachats tuberculeux, nous les avons soumises à l'action décolorante de l'acide nitrique au tiers pendant des temps variant de quelques secondes à une demi-heure, et même une heure ; nous avons pu nous rendre compte que soit que l'épaisseur des préparations ne fût pas toujours la même, soit qu'il y eût à ce point de vue des différences entre les bacilles des diverses lésions, tandis que certains bacilles résistaient à la décoloration prolongée pendant 40 minutes, d'autres ne résistaient que pendant 7 minutes, d'autres, moins encore, mais *tous dans tous les cas*, nous ont paru résister à 2 minutes de décoloration, et il ne nous a pas semblé qu'il y eût plus de bacilles visibles sur les préparations décolorées pendant quelques secondes (méthode classique) que sur celles où l'action décolorante s'était fait sentir 2 minutes. Par contre, dans ce dernier cas, tous les autres microbes étaient bien décolorés, ce qui n'est pas toujours le cas quand on ne décolore que quelques secondes.

Lorsque les bacilles résistent un quart d'heure et plus à l'action décolorante de l'acide nitrique, on les voit, sur les prépa-

rations, légèrement gonflés et déformés, ce qui ne se produit jamais lorsque l'acide nitrique agit 2 minutes.

Enfin, dans tous les cas, les bacilles nous ont paru décolorés après avoir séjourné pendant une heure dans l'acide nitrique ; et les bacilles ainsi décolorés, ne se recolorent pas par le bleu de Unna agissant pendant 5 minutes.

Nous pouvons donc conclure que le bacille résiste pendant 2 minutes au moins à l'action décolorante de l'acide nitrique au tiers.

Le temps optimum de décoloration est donc de 2 minutes, le bacille n'étant ni altéré, ni déformé.

Enfin le bacille de Koch, lorsque l'acide nitrique est parvenu à le décolorer complètement, ne se décolore pas sous l'influence d'un colorant aqueux agissant pendant 5 minutes, tandis que les autres microbes, — les streptocoques, — se colorent dans ces conditions. L'acide nitrique a donc éloigné la couleur, mais n'a pas modifié ses réactions de colorabilité. Nous verrons l'importance de ces faits quand nous appliquerons ces méthodes aux bacilles dits « acido-résistants ».

§ 2. — Mensuration de l'alcool-résistance.

La seconde réaction colorante caractéristique du bacille de Koch est de résister à l'action décolorante de l'alcool. Depuis longtemps déjà, nombre d'auteurs ont associé l'alcool à un acide minéral, pour décolorer le bacille de Koch, soit que les deux agents décolorants agissent simultanément, soit qu'ils agissent successivement.

Nous avons voulu préciser également le degré d'alcool-résistance du bacille de Koch, et pour cela nous avons procédé

comme nous l'avions fait pour la recherche du degré d'acido-résistance.

Un même crachat nous a fourni un certain nombre de lames, que nous avons traitées par le Ziehl à chaud pendant 10 minutes. Nous les avons décolorées par l'alcool absolu pendant 1, 2, 3, 10 minutes, etc.

Nous nous sommes arrêté à une décoloration de une heure par l'alcool absolu ; les bacilles sont encore colorés. Nous n'avons pas jugé à propos de chercher une limite plus éloignée, car les bacilles que nous cherchons à différencier du bacille tuberculeux ne supportent pas plus de quelques minutes l'action décolorante de l'alcool.

Nous avons d'autre part traité par l'alcool des bacilles préalablement décolorés par l'acide, afin de bien établir que l'action successive de ces deux décolorants ne les décolore pas.

Nous avons fait la préparation suivante :

Ziehl à chaud	10 minutes
Acide nitrique au 1/3	2 —
Eau.	
Alcool absolu	3 —
Bleu de Unna.	5 —
Alcool absolu.	jusqu'à décoloration du bleu.

Le bacille traité de cette façon reste coloré en rouge très franc, cette méthode nous a semblé la méthode de choix pour une étude critique, et c'est elle que nous nous proposons d'appliquer maintenant aux bacilles décrits sous le nom d'acido-résistants. Tout bacille qui ne reste pas coloré par cette méthode, n'est pas le bacille de Koch, car le bacille de Koch traité de cette façon, dans les crachats, reste toujours coloré.

Mais auparavant nous avons appliqué la même méthode d'une part au bacille tuberculeux humain isolé en culture pure, d'autre part aux bacilles tuberculeux bovin, aviaire et pisciaire, cultivés sur les milieux glycélinés.

Nous avons aussi expérimenté une race homogène de bacille de Koch qui a été donnée il y a plus de 6 ans par M. Courmont à M. Bezançon, et que nous entretenons depuis cette époque au laboratoire. Nous avons également éprouvé une race de bacilles que nous avons accoutumés avec M. Bezançon à vivre de façon homogène dans le bouillon.

Tous ces bacilles (humain, bovin, aviaire, pisciaire) ou leur culture, et les races homogènes se sont comportés absolument comme le bacille des crachats. Ils ont résisté à l'action décolorante de l'acide nitrique au moins pendant 2 minutes, à l'action décolorante de l'alcool pendant 3 minutes ; ils ne se recolorent pas ensuite par le bleu de Unna (1).

Ainsi le bacille tuberculeux héréditairement acido-alcoolorésistant, résiste aussi bien dans ses cultures que dans les produits pathologiques à l'action décolorante de l'acide nitrique et de l'alcool, et cela dans toutes ses variétés humaine, bovine, aviaire et pisciaire.

(1) Une fois cependant avec un échantillon de culture homogène d'Arloing-Courmont, nous avons vu quelques bacilles bleus.

CHAPITRE IV

LES RÉACTIONS COLORANTES DES BACILLES DITS ACIDO-RÉSISTANTS

Nous avons examiné un très grand nombre d'exsudats, et de bacilles accidentellement acido-résistants. Les colorants systématiques que nous voulons rapporter ici ont porté sur les bacilles des épanchements pleuraux, les bacilles des comédons, et les bacilles du smegma, des bacilles trouvés dans le sang putréfié.

Nous avons employé la même méthode, et nous avons étudié successivement l'action des colorants simples, c'est-à-dire le bleu de Unna ; certaines méthodes comme celle de Kühne-Borrel, celle de Gabbet ; la méthode classique par le Ziehl à chaud suivie de la décoloration par l'acide nitrique au tiers, avec mensuration de l'acido-résistance et de l'alcool-résistance.

1^{re} Préparation (1) :

Bleu de Unna	10 minutes.
Alcool absolu	jusqu'à décoloration.

Les bacilles sont en bleu pâle.

2^e Préparation :

Bleu de Unna	10 minutes.
Alcool à 90°	jusqu'à décoloration.

(1) Ce n'est pas une seule préparation de chaque sorte mais plusieurs que nous avons faites, et cela sur les trois variétés de bacilles accidentellement acido-résistants que nous mentionnons.

Les bacilles sont colorés en bleu plus ou moins intense.

Les bacilles se colorent donc directement sous l'action du bleu de Unna ; ils sont mieux colorés quand on a décoloré par l'alcool à 90° que par l'alcool absolu.

3^e Préparation (Kühne-Borrel) :

Ziehl chaud	10 minutes.
Chlorhydrate d'aniline	2 —
Alcool absolu	jusqu'à décoloration.

Les bacilles sont très faiblement colorés en rose pâle.

4^e Préparation (Gabbet) :

Ziehl chaud	10 minutes.
ou froid.	1/2 heure.
SO ⁴ H ² bleu	30 secondes à 1 minute.

Les bacilles sont bien rouges, d'autres sont bleus ; les cocci sont tous bleu très pâle.

5^e Préparation :

Ziehl chaud.	10 minutes.
NaCl à 20 0/0	2 heures.

Tous les éléments y compris les bacilles sont rouges.

6^e Préparation (acide organique).

Ziehl chaud	10 minutes
Acide tartrique en solution aqueuse saturée	10 —

Les bacilles sont bien colorés en rouge, le fond est rosé.

7^e Préparation (acide minéral).

A) agissant rapidement :

Ziehl chaud	10 minutes
Acide nitrique au 1/3.	30 secondes

Les bacilles sont bien colorés en rouge *intense*.

B) agissant longtemps.

Ziehl chaud.	10 minutes
Acide nitrique au 1/3.	2 —

Les bacilles sont complètement *décolorés*.

8° *Préparation* (alcoolo-résistance).

Ziehl chaud.	10 minutes
Alcool absolu.	10 —

Les bacilles sont complètement décolorés, la préparation est incolore complètement.

9° *Préparation* (classique).

Ziehl chaud.	10 minutes
Acide nitrique au 1/3	2 —
Eau.	
Alcool absolu.	3 —
Unna	5 —
Alcool absolu	temps suffisant

Les bacilles sont colorés en bleu pâle, aucun n'est rouge.

Interprétons maintenant ces faits. Les bacilles accidentellement acido-résistants se colorent par le bleu de Unna, c'est-à-dire par une solution colorante aqueuse en quelques minutes, à l'encontre du bacille de Koch, qui ne se colore pas du tout dans ces conditions.

Traités par les liquides colorants additionnés de mordants (Ziehl), ils se colorent avec intensité, avec plus d'intensité que les autres microbes contenus dans la préparation (streptocoques).

Les agents décolorants faibles comme les acides organiques dilués, le chlorure de sodium, ne les décolorent pas ; les acides

minéraux forts, comme l'acide nitrique, l'acide sulfurique, s'ils agissent pendant un temps très court ne les décolorent pas davantage ; ils ne décolorent d'ailleurs pas complètement le fond de la préparation dans ces conditions, c'est pourquoi ces microbes restent colorés par la méthode de Gabbet.

Mais les acides minéraux forts, dilués, agissant pendant 2 minutes, les décolorent complètement. Ces microbes sont faiblement acido-résistants.

L'alcool décolore rapidement tous ces microbes. Tandis que le bacille de Koch résiste pendant une heure à la décoloration par l'alcool, les bacilles sont décolorés le plus souvent *en quelques secondes* ; en 5 à 10 minutes ils sont sûrement décolorés.

C'est sans doute à l'action décolorante de l'alcool qu'il faut attribuer la décoloration partielle de ces microbes par la méthode de Kühne-Borrel.

Tandis que le bacille de Koch résistait à l'action décolorante de tous les acides, mais résistait électivement à l'action décolorante des acides minéraux forts, les bacilles qui nous occupent maintenant résistent peu à l'action décolorante de tous les acides, mais ils ne *résistent pas à l'action décolorante élective de l'acide nitrique au tiers*, c'est-à-dire des acides minéraux forts, suffisamment prolongée.

Ces bacilles sont faiblement acido-résistants.

Nous résumons dans le tableau suivant les principaux caractères de coloration de ces bacilles et du bacille de Koch :

CARACTÈRES COMPARÉS DE COLORATION DU BACILLE TUBERCULEUX ET DE
BACILLES ACCIDENTELLEMENT ACIDO-RÉSISTANTS.

Bacille tuberculeux.

1° Se colore en rouge par la méthode de Gabbet.

2° Résiste à l'action décolorante de la solution aqueuse saturée d'acide tartrique agissant pendant 10 minutes.

3° Résiste à l'action décolorante rapide de l'acide nitrique au 1/3.

4° Résiste à l'action décolorante prolongée de l'acide nitrique au 1/3 au moins 2 minutes.

5° Résiste à l'action décolorante de l'alcool au moins une heure.

6° Ne se colore pas par le bleu de Unna agissant 10 minutes.

*Bacilles accidentellement
acido-résistants.*

1° Se colorent en rouge par la méthode de Gabbet ; quelques éléments prennent le bleu.

2° Résistent à l'action décolorante de la solution aqueuse saturée d'acide tartrique agissant pendant 10 minutes.

3° Résistent à l'action décolorante *rapide* de l'acide nitrique au 1/3.

4° Ne résistent pas à l'action décolorante *prolongée* de l'acide nitrique au 1/3 au plus 2 minutes.

5° Ne résistent pas à l'action décolorante de l'alcool, au plus 5 à 10 minutes.

6° Se colorent par le bleu de Unna agissant 10 minutes.

CHAPITRE V

ÉNUMÉRATION DES BACILLES DITS ACIDO-RÉSISTANTS

Nous avons établi les caractères de colorabilité du bacille tuberculeux, et nous avons vu comment se comportent vis-à-vis de cette méthode et des autres méthodes approchées, les bacilles « acido-résistants » que l'on rencontre communément dans le smegma, les sérosités pathologiques.

Nous pouvons maintenant appliquer la méthode rigoureuse de coloration du bacille de Koch, à chacun des acido-résistant qui ont été décrits.

Mais auparavant, il faut que nous énumérions les bacilles, selon le tableau de classification qu'en ont donné Courmont et Potet.

I. Bacilles acido-résistants rencontrés chez l'homme.

A. Habituellement pathogènes.

1. Bacille de la tuberculose (Koch).
2. Bacille de la lèpre (Hansen).
3. Bacille de la Verruga du Pérou (?) (Isquierdo, Nicolle, Letulle, Odriozola).

B. Non pathogènes (ou probablement).

1. Bacilles trouvés chez l'homme sain :

- a) Par Laabs, Rabinowitsch, dans diverses sécrétions.
- b) Bacille du smegma.
- c) Bacille du cérumen (Gottstein).
- d) Bacille du mucus nasal de Karlinski.

2. Bacilles trouvés chez l'homme malade :

- a) Dans la gangrène pulmonaire, par Pappenheim, Fränkel, Folli, Mayer, et surtout bacille isolé par L. Rabinowitsch.
- b) Dans les autres affections pulmonaires par Zahn, Möller, Flexner, Lichtenstein, Mayer, Ohlmacher, Birt et Leichmann.
- e) Dans les affections oculaires par Ginsberg.
- d) Dans les affections uro-génitales par Stolz, Dittrich, Laser, Czaplewski.
- e) Dans les fèces d'un typhique par Mironescu.
- f) Dans la lèpre par Bordoni, Levy, Spronck, Czaplewski.

II. Bacilles acido-résistants des animaux.

- 1. Bacilles de la tuberculose (bovine, aviaire, pisciaire).
- 2. Bacille de Möller (Bacille de la pseudo-pommelière de la vache).
- 3. Bacille du pis des vaches et du smegma (Cowie).
- 4. Bacille du fumier (Möller, Severin, Capaldi), Mist-bacillus de Möller.

III. Bacilles acido-résistants du lait et du beurre.

- a) Bacille de Petri-Rabinowitsch.
- b) Bacille de Korn (I et II).
- c) Bacille de Coggi.
- d) Bacille de M. Tobler.
- e) Bacille de Binot.
- f) Bacille du lait de Möller (Milch-bacillus).

IV. Bacilles acido-résistants de la nature.

1. Sur les plantes :

- a) Bacilles des graminées. Gras-bacillus I de Möller. Thimothée-Bacille.

- b) Bacilles des graminées. Gras-bacillus II de Møller.
2. Dans la terre.
- a) Eaux d'égout (Spina, Houston),
b) Sable, terre (Karlinski, Møller).
3. Dans le fumier. Mist-bacillus de Møller.

A cette liste, il faut ajouter un certain nombre de bacilles acido-résistants, dont la connaissance est postérieure à la publication des travaux de Courmont et Potet, et quelques types plus anciens qu'ils ont omis.

1. Bacilles rencontrés dans le smegma par Cowie, Neufeld (1900), Newjadowski et Kedrowski (1899), Fränkel, Weber (1902), Møller (1902), Dahms (1900), Brown (1898).

2. Bacille trouvé par Lubarsch dans une urine retirée par cathétérisme de la vessie.

3. Bacilles trouvés dans l'expectoration par Aoyama et Miyamoto (1900), et par Ophüls (1902), par Spina, par Milchner.

4. Bacilles trouvés par Lubarsch dans le pus d'une arthrite non tuberculeuse de la hanche.

5. Bacille trouvé par Lubarsch dans la matière crayeuse des lésions athéromateuses des artères.

6. Bacilles rencontrés à la surface de l'amygdale par Marzinkowski et par Beck (1905).

7. Bacilles décelés dans le sang putréfié de l'homme et des animaux, par Spina (1883).

8. Bacilles trouvés dans les épanchements pleuraux et dans le sang, par Bezançon, Griffon et Philibert (1903).

9. Bacilles provoquant des lésions pseudo-lépreuses chez les rats et les surmulots, décrits par Stefansky (1904) et Olschanetzki (1902) et Dean.

10. Bacilles trouvés dans le contenu intestinal du bœuf par Olt (1892), par Garth, Siegen (1893), Séverin (1897), Strasburger (1900).

11. Bacille trouvé dans le mucus nasal du bœuf par Pressz (1900).

12. Bacille du lait de Carnevali (1901).

13. Bacilles du beurre de Herr et Beninde, de Herbert (1899), de Aujesky (1900), de Benvenuti (1900), de Beck (1905).

14. Bacilles trouvés par Posecharysky et Barannikow dans les organes des cadavres.

15. Bacilles trouvés dans l'eau, par Karlinski, Matzuhita.

16. Bacille trouvé par Mezincescu dans une tumeur de la peau.

CHAPITRE VI

LES BACILLES TUBERCULOÏDES

Les recherches que nous venons d'exposer nous amènent à établir une distinction absolue entre le bacille de la tuberculose humaine, bovine, aviaire, pisciaire et les bacilles accidentellement acido-résistants des épanchements pleuraux et de la peau.

Dans une communication faite par M. Bezançon et nous au Congrès de la tuberculose de 1905, à Paris, nous nous sommes déjà élevés contre l'englobement en un groupe unique de tous les microbes acido-résistants, et nous avons nettement indiqué la nécessité qu'il y a de distinguer parmi ces bacilles, deux groupes, d'une part les bacilles héréditairement acido-alcool-résistants ou tuberculoïdes, et d'autre part des bacilles accidentellement acido-résistants.

Armés de ce critérium de la réaction colorante, nous pouvons maintenant passer en revue tout l'ancien groupe des bacilles acido-résistants.

Pour ceux des échantillons que nous avons pu nous procurer, nous avons vérifié nous-même les réactions colorantes, les caractères de culture, le pouvoir pathogène. Pour les types que nous n'avons pu avoir à notre disposition, nous nous en sommes rapporté à ce qu'en disent les auteurs, en analysant et en critiquant les méthodes qu'ils ont employées et les résultats qu'ils ont donnés.

Dans le groupe des anciens acido-résistants, nous pouvons d'abord séparer une première catégorie de bacilles qui ont fait l'objet des travaux de Koch, Petri, Rabinowitsch, Møller, Markl, Coggi, Tobler, Grasberger, Beck, Carnevali, etc.

Ils contiennent :

a) Un certain nombre de bacilles trouvés dans le beurre et dans le lait.

α. *Bacilles du beurre* (Bacille de Petri-Rabinowitsch, bacille de Korn I et II, bacilles de M. Tobler (I à V), bacille de Benvenuti, bacille de Markl, bacille de Binot, bacille d'Aujesky, bacille de Beck, bacille de Herbert, bacille de Herr et Beninde, bacille de Grasberger).

β. *Bacilles du lait* (bacille de Møller, bacille de Carnevali).

b) Des bacilles trouvés dans la nature,

Sur les graminées (bacille de la Fléole, Bacille de Thimothée, de Møller. Gras-bacillus I).

Dans les greniers à fourrages (Gras-bacillus II de Møller).

Sur le fumier (Mist-bacillus de Møller).

Tous les bacilles de cette catégorie sont en effet morphologiquement semblables au bacille de Koch, et peuvent même comme lui, dans les mêmes conditions (vieilles cultures), devenir filamenteux, ramifiés, ou actinomycosiformes (tissus) (1).

(1) Schultze et Lubarsch ont vu en effet que le Thimothée-bacille inoculé dans le rein du lapin présente dans cet organe une disposition actinomycosique (aspect de filaments ramifiés, rayonnés, présentant à leur extrémité terminale un renflement en crosse) ; nouveau point de rapprochement avec le bacille de Koch qui peut présenter cette même disposition lorsqu'on l'inocule soit dans le cerveau (Babès et Levaditi, Cornil, Bezançon et Griffon), soit dans le rein (Bernard et Salomon).

Tous ces bacilles sont, comme le bacille de Koch, énergiquement *acido-résistants* et en outre *alcool-résistants*, c'est-à-dire que si, après les avoir traités par les acides dilués, on les plonge dans un bain d'alcool absolu, ils gardent la couleur qu'ils ont prise au contact du liquide de Ziehl (1).

Ils sont, comme le bacille de Koch, *héréditairement acido-résistants*, c'est-à-dire que, cultivés sur des milieux non additionnés de substances grasses, ils donnent cependant naissance à des colonies de bacilles eux-mêmes acido et alcool-résistants. Ils fabriquent donc directement par eux-mêmes, aux dépens des matières contenues dans le milieu de culture, la substance qui les rend acido-alcool-résistants, et cette propriété est pour eux, comme pour le bacille de Koch, un caractère *d'espèce*, puisqu'elle se transmet héréditairement dans toutes les transformations successives du microbe.

Tous ces bacilles possèdent en outre d'autres caractères qui leur sont communs et d'autre part les rapprochent du bacille de Koch. Cultivés sur les milieux usuels appropriés, ils donnent des colonies qui par leur aspect ressemblent singulièrement soit aux colonies du bacille tuberculeux humain, soit à celles du bacille tuberculeux aviaire. Dans le premier cas, on a des cultures sèches, écailleuses, plissées, dans le second des cultures plus grasses. Ces bacilles forment sur le bouillon un voile gaufré, plissé, tandis que le bouillon reste clair. Le bord du voile remonte sur les parois du verre à la façon du voile du bacille tuberculeux.

(1) Nous avons étudié ceux de ces bacilles que nous avons eus entre les mains, et *tous* résistent à la méthode que nous proposons. Y. Cazottes, dans sa thèse, a comparé et étudié le degré d'acido-résistance de toutes ces espèces.

Tous ces bacilles sont pathogènes pour le cobaye (1). Mais au lieu de donner comme le bacille de Koch virulent des lésions tuberculeuses, ils provoquent quand on les inocule sous la peau un abcès caséux local, sans généralisation, et quand on les inocule dans le péritoine, à forte dose, des lésions de péri-viscéríte fibro-caséuse surtout marquée autour de l'estomac, de la rate et du foie, et exceptionnellement seulement des lésions nodulaires à distance. Nous avons montré, avec M. Bezançon, dans un travail paru dans la *Revue de la tuberculose*, les similitudes que présentent ces lésions avec les lésions provoquées par des races de bacilles de Koch atténuées (2).

Dans ce groupe de bacilles essentiellement et héréditairement acido-résistants rentrent enfin quelques bacilles très voisins des précédents par leur réaction colorante, leurs caractères de culture et leur pouvoir pathogène, et dont quelques uns pourraient leur être tout à fait identifiés. Ce sont : 1° Un bacille trouvé par Møller chez un bovidé, bacille qui avait déterminé chez cet animal des lésions comparables à la pomme-lière, mais qui, isolé sur les milieux de culture, se comportait non comme le bacille de la tuberculose bovine, mais comme le Thimothée-bacille.

2° Un bacille trouvé par Mme Lydia Rabinowitsch dans un cas de gangrène pulmonaire et qui possède lui aussi tous les caractères du Thimothée-bacille.

3° Un bacille trouvé dans la sérosité d'un vésicatoire par

(1) Seul le bacille de Korn II n'est pas pathogène pour le cobaye (Korn), mais par contre, il détermine dans le poumon du lapin des granulations au niveau desquelles on retrouve des cellules géantes.

(2) BEZANÇON et PHILIBERT, Recherches sur l'inoculation simultanée de bacille tuberculeux et de beurre dans le péritoine des cobayes. *Revue de la tuberculose*, 15 août 1905.

Møller (qui l'appelle Bacille du smegna) et qui est très voisin par tous ses caractères de certains bacilles du beurre et du Thimothée-bacille.

4° Un bacille trouvé dans l'intestin d'un malade atteint de fièvre typhoïde par Mironescu et qui est à rapprocher des bacilles du lait.

5° Un bacille trouvé par Beck sur l'amygdale d'une femme tuberculeuse. Ce bacille donne sur les milieux de culture des colonies du type des tuberculoïdes et détermine chez le cobaye des lésions généralisées ; mais les lésions réinoculées, ne donnent plus au cobaye qu'une lésion locale. La seule différence de ce bacille avec le bacille tuberculeux classique est donc l'absence de tuberculose en série, d'après la loi d'Hippolyte Martin.

A côté de ces bacilles vient logiquement se placer le bacille de Hansen. Dans les coupes, les bacilles lépreux sont nettement acido et alcool-résistants. Baumgarten prétend même qu'ils seraient plus acido-résistants que le bacille tuberculeux. Gougerot, dans un cas de Bacillémie hansenienne qu'il a publié, a constaté l'acido-résistance du bacille faite avec le sang de son malade.

Mais la culture du bacille de la lèpre est restée jusqu'ici bien problématique. Les auteurs qui ont prétendu obtenir des cultures comme Spronck, avaient affaire à un bacille non acido-résistant sur les milieux de culture. Il est douteux que ces auteurs aient isolé le véritable bacille de la lèpre (1). Les bactériologistes s'accordent généralement pour admettre que le bacille de Hansen n'a pas encore été isolé en culture. Pourtant,

(1) P. E. Weil cependant a eu des résultats intéressants, quoique non définitifs, en utilisant les milieux à l'œuf.

tout récemment, MM. de Beurmann et Gougerot ont signalé un travail de Rost, qui aurait réussi la culture du bacille lépreux sur un milieu spécial (1). Le bacille croît très lentement, les premières colonies n'apparaissent pas avant deux ou trois mois ; ces colonies, une fois développées, sont blanches, puis jaunes, puis rouge-brique, épaisses, écailleuses et *ressemblent à celles du bacille de Koch*.

Le bacille serait acido-résistant dans ces cultures. Rost suppose qu'il s'agit bien du bacille de Hansen, car, dit-il, les bacilles acido-résistants connus (les tuberculoïdes) poussent très rapidement et sur les milieux usuels, à l'encontre du microbe qu'il a isolé. D'autre part, la grande fréquence de la tuberculose chez les lépreux pourrait faire penser qu'il a isolé le bacille de Koch, mais, dit-il, le bacille de ses cultures ne produit pas de tuberculose chez le cobaye : il n'est pas pathogène pour cet animal (2). Cette tentative est donc intéressante, si les travaux de Rost sont confirmés.

Dans ce groupe il faudrait sans doute aussi comprendre : le bacille de Ginsberg, qui provoque une conjonctivite particulière, le bacille de la pseudo-lèpre des rats et des surmulots de Stefansky, d'Olchanetzki et de Dean, qui sont nettement alcool-acido-résistants dans les tissus pathologiques, mais n'ont pas pu être cultivés ; le bacille de la verruga du Pérou de Isquierdo vient se placer à côté d'eux ; bien que Odriozola dise avoir cultivé une fois ce bacille, qui se trouvait dans le sang de son malade, il n'est pas bien certain qu'il ait obtenu

(1) Le milieu est un mélange de pierre ponce pulvérisée et d'extrait de bœuf.

(2) Nous avons observé avec M. Bezançon des races de bacilles tuberculeux qui ne sont plus pathogènes pour le cobaye.

dans ses cultures le bacille que l'on rencontre dans les tissus pathologiques de la verruga du Pérou.

Il est logique également de rapprocher de ces bacilles le bacille du mucus nasal de Karlinski, qui se rapproche par tous ses caractères, notamment par ses caractères pathogènes et par ses caractères de culture, des bacilles du lait et du beurre. Il est acido-résistant sur les cultures, quoique parfois à un moindre degré que le bacille de Koch.

Tous ces bacilles méritent d'être réunis sous le nom de bacilles tuberculoïdes que leur a attribué Beck.

Ils forment une famille naturelle avec le bacille tuberculeux humain et ses variétés aviaire et pisciaire.

Dans leur *Traité de bactériologie*, Lehmann et Neumann englobent tous ces bacilles en un seul genre, le genre *mycobacterium* qui comprend les espèces suivantes :

Myco-bacterium tuberculosis — bacille tuberculeux humain et bovin.

Myco-bacterium tuberculosis, *B. avium* — bacille de la tuberculose aviaire.

Myco-bacterium tuberculosis, var. *poikilothermorum* — bacille de la tuberculose pisciaire.

Myco-bacterium lepræ — bacille de Hansen.

Myco-bacterium Verrugæ — bacille de la Verruga du Pérou.

Myco-bacterium lacticola et *planum* — *Gras-bacillus* II Møller.

Myco-bacterium lacticola, *B. perrugosum* — bacille du beurre.

Myco-bacterium phlei (1) — bacille de Thimothée.

(1) Lehmann et Neumann rangent dans ce groupe le bacille du smegma de Weber ; nous ne pensons pas qu'on puisse le classer parmi les tuberculoïdes.

Nous avons nous-même étudié la plupart de ces bacilles, non seulement au point de vue de leur réaction colorante, mais encore dans tous leurs autres caractères biologiques.

Si intéressants qu'ils soient au point de vue philosophique, à cause des rapports de parenté indéniable qu'ils présentent avec le bacille de Koch, nous ne nous y arrêterons pas davantage, et cela pour une raison bien nette : c'est que l'intérêt clinique de ces microbes est presque nul et leur importance diagnostique rare au point de vue pratique.

Si la plupart des auteurs parlent de diagnostic entre les bacilles tuberculoïdes acido-résistants et le bacille de Koch, ils sortent de la réalité, car, en dehors de 3 ou 4 cas uniques, celui de Rabinowitsch, celui de Beck, celui de Moeller, celui de Mironescu, on n'a pas l'occasion de rencontrer ces bacilles tuberculoïdes sur l'homme, dans ses secreta physiologiques ou pathologiques.

Encore qu'il nous soit permis de faire quelque réserve sur le bacille trouvé sur l'amygdale par Beck.

Beck l'a isolé en 1901 des amygdales d'une femme qui mourut de tuberculose pulmonaire ; le bacille pousse sur les milieux glycinés entre 25° et 40°, son optimum est de 38° ; il pousse lentement, en 17 à 18 jours ; sur le bouillon, qu'il trouble parfois, il pousse aussi un voile, qui apparaît en une quinzaine de jours ; l'aspect des colonies est le même que celui des colonies des autres bacilles tuberculoïdes.

Mais ce bacille inoculé au cobaye par la voie sous-cutanée tue cet animal en 8 à 10 semaines avec rate 6 à 8 fois plus grosse que la normale et tubercules dans les poumons.

Ce sont là des caractères qui pourraient s'appliquer à bien des races de bacilles tuberculeux, et il est difficile de ne pas

douter que l'on se trouve tout au moins en face d'un tuberculoïde qui est bien voisin du bacille de Koch ; il diffère de lui en ce que, d'après la loi de Hippolyte Martin, les lésions des cobayes infectés par ce bacille ne sont pas importantes, ou plutôt ne produisent qu'une lésion locale chez les cobayes neufs. Mais la loi d'Hippolyte Martin est-elle intangible ?

Nous croyons qu'il peut exister des bacilles tuberculeux avérés de virulence moindre, et nous avons étudié déjà, dans un travail fait en collaboration avec M. Bezançon, des lésions très discrètes provoquées par nous chez le cobaye avec des races de bacilles tuberculeux atténuées dans leur virulence.

Le bacille vu et isolé une fois par Mme Rabinowitsch serait immanquablement confondu avec le bacille de Koch, car il a la même forme, et la même acido-alcool-résistance. Il végète bien, en 24 heures sur les milieux ordinaires lorsqu'il est isolé en culture pure, mais si on le rencontrait dans un cas de gangrène, où il est associé à une multitude d'autres germes, il serait trop long de l'isoler par la méthode de séparation des germes. Le moyen le plus sûr est encore d'employer l'inoculation au cobaye : le bacille de L. Rabinowitsch n'est pas pathogène pour le cobaye ; il ne donne à cet animal qu'un abcès local, tandis que le bacille de Koch donnerait une tuberculose généralisée.

Le *bacille de Mironescu* a été trouvé dans les selles d'un typhique. La lecture de l'observation montre qu'il s'agit probablement d'un tuberculoïde du lait.

OBSERVATION DE MIRONESCU. — Malade suspect de dothiéntérie ; on fait des frottis de ses fèces et on colore les préparations selon la méthode de Ziehl-Neelsen ; dans ces préparations se trouvent des bacilles non décolorés, peu nombreux, isolés ou formant de petits amas,

un peu plus longs ou un peu plus courts que le bacille de Koch, parfois granuleux. Sur des plaques d'agar glycinée, ensemencées avec une émulsion étendue de fèces, on voit apparaître, au bout de quatre jours, des colonies blanches, sèches, ridées, qu'on reconnaît au microscope être constituées par des bacilles résistant aux acides. Ces bacilles poussent mieux à la température de l'étuve qu'à la température de la chambre.

Les jeunes cultures ont un aspect humide, brillant ; au bout de quelques jours, la culture se sèche, se ride ; dans la deuxième semaine, elle prend une coloration rouge, surtout sur agar simple ou saccharosée. Le petit lait tournesolé devient bleu au bout de vingt-quatre heures ; à la surface, il se forme comme sur le bouillon une mince pellicule ridée. En piqûre dans l'agar saccharosée, il ne se fait pas de végétation dans la profondeur.

Dans les cultures, les bacilles se montrent assez peu résistants à la décoloration par les acides ; une solution d'acide nitrique à 33 0/0 en décolore quelques-uns au bout de cinq minutes. La résistance à la décoloration est diminuée par l'élevage en milieux artificiels ; elle est augmentée par le passage par les animaux.

Si on inocule des cultures pures de notre bacille dans la cavité péritonéale de cobayes ou de souris blanches et qu'on tue ces animaux au bout de trois ou quatre semaines, on observe un abcès à l'endroit de l'injection, et quelques fausses membranes sur le foie et la rate. Inoculées avec du beurre stérilisé nos bactéries produisent des adhérences entre le péritoine, le foie, la rate, la vessie ; les ganglions mésentériques sont tuméfiés et en partie purulents. On obtient des cultures pures du bacille en partant de ces divers organes lésés. Mironescu ne reconnaît à son bacille aucun pouvoir pathogène pour l'homme.

Mironescu pense qu'il a rencontré des bactéries peu décolorables par les acides venant du beurre ou du lait et ayant traversé l'appareil intestinal.

Nous avons rapporté cette observation simplement pour

montrer que, comme dans le cas de Jousset, il s'agit d'un malade nourri de lait. Or la fréquence des bacilles tuberculoïdes dans le lait rend le diagnostic du bacille de Koch dans les matières fécales très difficile par l'examen direct.

Le quatrième bacille tuberculoïde rencontré chez l'homme est celui que Møller appelle bacille du smegma. Il ne mérite pas cependant d'être désigné sous ce nom, car ce n'est pas du smegma qu'il a été isolé. Nous ne voulons pas entrer d'ailleurs dans une discussion d'homologation de microbe. Il nous suffit que ce bacille présente les mêmes caractères que les autres bacilles tuberculoïdes du lait, du beurre, et de la nature pour que nous le regardions comme un bacille tuberculoïde.

Møller l'a isolé de la façon suivante : il avait appliqué un vésicatoire à un malade, dans le but d'étudier le pouvoir agglutinatif de la sérosité sur le bacille de Koch en culture homogène. Ayant abandonné le reste de la sérosité qu'il n'avait pas employé, il y trouva des bacilles acido-résistants, qu'il parvint à isoler en culture pure sur des plaques d'agar glycinée. Il réussit à retrouver le même microbe en cultivant dans la matière sébacée de la dépression ombilicale du sérum humain.

Ce bacille offre les caractères de culture des bacilles tuberculoïdes, il présente comme eux la propriété alcool-acido-résistante sur ces cultures, ainsi que nous l'avons vérifié nous-même sur un échantillon que nous a envoyé Král.

Møller, dans sa note, dit que ce bacille n'est pas pathogène pour le cobaye. Nous sommes en parfait accord avec lui ; quand on inocule ce bacille, de même que lorsqu'on inocule le sebum, en petite quantité (une anse de fil de platine) sous la peau du cobaye, l'animal présente une induration tempo-

raire qui régresse rapidement. Ce fait suffit à distinguer ce bacille de Mœller entre autres, du bacille de Koch.

Mais lorsqu'on l'inocule à haute dose dans le péritoine, surtout quand on inocule simultanément du beurre à cet animal, le bacille de Mœller se comporte à la manière des bacilles du lait et du beurre, il provoque une péritonite plastique péri-spléno-hépatique, à laquelle l'animal peut succomber en un temps plus ou moins long. Ce sont là du moins les résultats que l'échantillon de Král a donné entre nos mains.

Ce fait nous permet de le rapprocher complètement des autres tuberculoïdes. En même temps, il le sépare du bacille de Koch virulent.

Nous n'insisterons pas davantage sur ces bacilles ; nous nous bornerons à établir avec eux un tableau, résumant leurs caractères, sans entrer ici davantage dans la discussion de leur degré de parenté ou de similitude avec le bacille de Koch.

Rappelons seulement que nous avons montré avec M. Bezangon, dans le travail que nous avons déjà cité, les relations étroites qui existent entre les bacilles tuberculoïdes et le bacille de Koch atténué dans sa virulence (1), et que nous avons insisté sur l'intérêt philogénétique de cette homologie.

Ce groupe de bacilles mérite bien le nom de bacilles héréditairement acido- et alcool-résistants que nous leur avons donné. Le fait le plus saillant qui les caractérise, à notre avis,

1) D'après Cazottes, certains bacilles tuberculoïdes seraient moins acido-résistants que le bacille de Koch. Mais il admet pour celui-ci une acido-résistance beaucoup plus considérable que nous-même, et d'après son travail même tous les tuberculoïdes sont beaucoup plus acido-résistants que ne l'exige notre méthode.

est de conserver sur les milieux de culture non additionnés de graisse ou de sérosités, la propriété acido-résistante.

Elle correspond pour eux à une fonction importante, celle qui leur permet de fabriquer par synthèse, aux dépens des substances albuminoïdes contenues dans le milieu, des matières grasses, qui sont analogues à celles que fabrique le bacille tuberculeux.

Nous groupons dans le tableau suivant les bacilles possédant la double propriété acido et alcool-résistante.

BACILLES ACIDO ET ALCOOLO-RÉSISTANTS

(Héréditairement acido-résistants).

1° **Bacille de la tuberculose humaine, bovine, aviaire, pisciaire.**

2° **Bacilles non cultivés :**

Bacille de la lèpre.

Bacille de Ginsberg.

Bacille de la pseudo-lèpre des rats de Stefanski, Olschanetzki et Dean.

Bacille de la Verruga du Pérou.

3° **Bacilles tuberculoïdes.**

α. Bacilles du beurre :

de Petri-Rabinowitsch.

de Korn I et II.

de Tobler, I, II, III, IV, V.

de Benvenuto.

de Markl.

de Binot.

de Aujesky.

de Beck.

de Herbert.

de Herr et Beninde.

β. Bacilles du lait :

de Møller.

de Carnevali.

γ. Bacilles de la nature :

Thimothée-bacille de Møller.

Gras-bacillus II de Møller.

Mist-bacillus de Møller.

δ. Bacille de la pseudo-pommelière des bovidés de Møller.

ε. Bacilles trouvés chez l'homme :

de la gangrène de L. Rabinowitsch.

dit du smegma de Møller.

de Beck (amygdale).

de Mironescu.

de Karlinski (mucus nasal) (1).

(1) Ce bacille n'est pas alcool-résistant, mais il se comporte comme un tuberculoïde dans ses cultures.

CHAPITRE VII

BACILLES PSEUDO-ACIDO-RÉSISTANTS

Bien plus intéressants sont les autres bacilles acido-résistants, parce que ce sont ceux avec lesquels nous aurons à compter au point de vue du diagnostic clinique. Ces microbes, qu'on a confondus jusqu'ici dans le groupe des acido-résistants, doivent être absolument séparés des bacilles tuberculoïdes ; ils doivent former une seconde catégorie, mais non plus homogène, comme les bacilles du premier groupe.

En appliquant comme critérium notre méthode de coloration, ceux-ci venaient se ranger tout naturellement autour des bacilles tuberculeux. Ceux qui vont nous occuper maintenant se comportent comme les bacilles accidentellement acido-résistants des épanchements pleuraux. Traités par la méthode de Gabbet ou décolorés légèrement par un acide minéral, ils se montrent bien colorés en rouge, mais si on les décolore par l'acide nitrique pendant 2 minutes, puis ensuite par l'alcool, ces bacilles se décolorent. Bien plus, si ensuite on colore la préparation par une couleur simple, ils prennent facilement cette couleur, comme ils gardent facilement le Ziehl quand on néglige d'enlever celui-ci. Ces bacilles sont faiblement acido-résistants.

Ils méritent le nom de pseudo-bacilles acido-résistants.

Ces conclusions découlent d'une part des colorations que

nous avons pratiquées, et d'autre part, de l'analyse critique des travaux des auteurs.

Tout ce groupe de bacilles accidentellement et faiblement acido-résistants est en effet composé exclusivement de microbes trouvés chez l'homme et chez les animaux, et le plus souvent dans des circonstances particulières qu'il est intéressant de noter. On retrouve en effet, à l'état normal, ces bacilles dans les produits des glandes sébacées ou des glandes analogues.

Un très grand nombre ont été trouvés :

1° Dans le smegma, par Alvarez et Tavel (1883), Matterstock (1883), Doutrelepont et Schutze (1883), Lustgarten (1884), Laabs (1894), Laser (1897), Czaplewski (1897), Frankel, Casper, Stolz, Brown (1898), Neufeld, Newjadowski et Kedrowski, Grünbaum, Cowie, Dahms, Barannikow, Weber, et dans l'urine par Lubarsch ;

2° Dans le sébum, les comédons, les sécrétions interdigitales des orteils, par Laabs, Preisich et Schultze ;

3° Dans le cérumen par Gottstein ;

4° A la surface de la langue, dans le tartre dentaire, par Mme Lydia Rabinowitsch ; sur l'amygdale par Marzinowski.

On retrouve encore des bacilles de cette nature dans certaines lésions pathologiques et là encore dans des conditions très particulières. Ainsi ils ont été signalés :

1° Dans les crachats de gangrène pulmonaire par Pappenheim, Fränkel, Folli, Ophüls ;

2° Dans les crachats de dilatation bronchique, ou de bronchite banale, par Zahn, Möller, Lichtenstein et Milchner, Ohlmacher, Flexner, Aoyama et Miyamoto, Spina ;

3° Dans certaines suppurations très spéciales, notamment celles de l'oreille par Cima, celle d'un kyste de l'ovaire par

Dittrich, dans une arthrite suppurée de la hanche par Lubarsch ;

4° Rappelons que nous avons trouvé avec M. Bezançon des bacilles acido-résistants dans les liquides séro-fibrineux recueillis par ponction.

Nous en avons également trouvé dans le sang, ainsi que Lichtenstein, Houston, Spina (1883).

Dans les lésions crayeuses de l'athérome artériel, Lubarsch a signalé un acido-résistant.

Dans les cadavres enfin, on a signalé des bacilles analogues. Barannikow, Poscharysky, Herr, Spina, Houston, Karlinski, Matzuhita.

La connaissance approfondie de ces bacilles et des conditions dans lesquelles ils se présentent est d'un intérêt beaucoup plus considérable au point de vue pratique, que celle des bacilles tuberculoïdes.

Ce sont en effet les faux acido-résistants du smegma, souillant l'urine, qui peuvent en imposer pour du bacille de Koch, et faire croire à la tuberculose des voies urinaires.

Ce sont ces bacilles qui, dans l'expectoration, font porter le diagnostic de tuberculose, alors qu'il s'agit d'une gangrène, d'une bronchectasie, d'une simple bronchite.

Dans les pleurésies, dans les ascites, la présence de ces microbes peut faire attribuer à la tuberculose un épanchement mécanique ; dans le sang, ils peuvent faire croire à des septicémies tuberculeuses ; enfin même dans les lésions de la peau, ils donnent le change à tel point dans certains cas qu'on serait tenté de traiter par l'ablation une lésion syphilitique ou inflammatoire (cas de Mezincescu).

Nous pensons que ces erreurs sont faciles à éviter, si l'on

applique la méthode de décoloration rigoureuse que nous avons indiquée.

Nous nous proposons d'étudier maintenant ces bacilles acido-résistants signalés par les divers auteurs ; nous indiquerons les recherches de contrôle auxquelles nous nous sommes livré.

Nous traiterons successivement :

1° Les bacilles acido-résistants des urines et du smegma ;

2° Les bacilles acido-résistants des sécrétions sébacées de la peau, c'est-à-dire les bacilles des comédons, du cérumen ;

3° Les bacilles acido-résistants des épanchements pleuraux et du sang ;

4° Les bacilles acido-résistants de l'expectoration (gangrène pulmonaire et autres affections des voies respiratoires).

5° Puis nous dirons un mot des bacilles acido-résistants du pus, de la bouche, de l'intestin et des cadavres.

§ 1. — Bacilles acido-résistants de l'urine et du smegma.

Nous réunissons dans un même groupe les bacilles acido-résistants de l'urine et du smegma parce qu'il est probable que la plupart des bacilles acido-résistants trouvés dans l'urine viennent du smegma qui souille l'urine au moment de la miction.

Pourtant, il n'est pas certain qu'il en soit toujours ainsi. Lubarsch a constaté l'existence d'un bacille acido-résistant dans l'urine retirée par cathétérisme.

Nous-même, dans un seul cas, il est vrai, nous avons trouvé des bacilles acido-résistants dans l'urine retirée par le

cathétérisme, alors que dans tous les autres cas, ce n'est que dans l'urine émise par miction normale que nous avons rencontré parfois des bacilles de cette nature (1).

Bacille de Laabs. — Laabs n'a pas fait une étude systématique des bacilles qu'il signale. Il dit simplement que dans la plupart des sécrétions de la peau et des muqueuses, c'est-à-dire dans le mucus nasal, dans le mucus des coins de la bouche, dans le smegma préputial, dans le cérumen, les sécrétions interdigitales, les comédons, il a trouvé « des bacilles qui ressemblent beaucoup par la forme, les dimensions et surtout par les propriétés de coloration au bacille de la tuberculose ».

Bacille de Lustgarten. — Lustgarten cherchant à découvrir le bacille de la syphilis, examine le produit de raclage des lésions syphilitiques, chancre, papules, plaques muqueuses, gommès, dans les régions où naturellement on rencontre ces lésions, c'est-à-dire la peau, la muqueuse génitale, la bouche. C'est également dans ces régions que l'on trouve — au moins sur la peau et dans le smegma, — la sécrétion sébacée.

Il rencontre dans ces lésions un bacille fin, grêle, qu'il colore de la façon suivante : Il traite les frottis pendant 24 heures par le violet aniliné, à froid, puis il lave à l'alcool absolu, et décolore par le permanganate de potasse au 1/10 et l'acide sulfureux. Le bacille reste franchement coloré en violet, les autres éléments sont décolorés pour la plupart (2).

(1) BRYSON dit que lorsqu'il s'agit de rechercher le bacille de Koch dans l'urine, on a plus de chance d'en trouver dans l'urine retirée par cathétérisme que dans l'urine recueillie par miction. Selon lui, les bacilles se sédimenteraient dans le bas-fond de la vessie. Il en a, dit-il, toujours trouvé davantage dans l'urine ainsi recueillie que dans l'urine émise normalement.

(2) Nous avons été frappé nous-même de la fréquence avec laquelle on trouve dans les lésions syphilitiques de la vulve des bacilles « acido-résistants ».

Ses essais de culture et d'inoculation sont négatifs.

Le permanganate de potasse agit comme agissent les agents oxydants, comme l'eau oxygénée ; nous avons vu que celle-ci agissant pendant 2 heures ne suffit pas à décolorer une préparation. Lustgarten ne précise pas le temps qu'il a employé pour la décoloration par l'alcool.

Etant donné l'intensité du colorant. — nous savons que le violet de gentiane aniliné est un colorant beaucoup plus énergique que le liquide de Ziehl. — il n'est pas surprenant que même un bacille du groupe des accidentellement acido-résistants puisse dans ces conditions garder la couleur.

Bacille d'Alvaez et Travel. — Alvarez et Tavel, pour retrouver le bacille de Lustgarten, examinent les sécrétions diverses de la peau et des muqueuses des syphilitiques, et par comparaison des individus sains, ils s'aperçoivent que le bacille se trouve d'une façon presque constante dans le sillon balano-préputial, au niveau de l'anus, dans la région génitale, alors qu'il manque dans les autres régions, et cela aussi bien chez les sujets sains que chez les sujets syphilitiques.

Ils concluent que le bacille de Lustgarten est un saprophyte normal du smegma préputial.

Le bacille qu'ils ont vu est polymorphe. Il est tantôt grêle, long de 2 à 7 μ , en moyenne de 3 à 4 μ ; épais de 3/10 de μ ; droit ou incurvé. Il est parfois granuleux, et se tient de préférence à la surface des cellules desquamées. Tantôt, il présente des renflements en massue.

Nous avons vu bien souvent ces deux aspects si différents, et nous pensons qu'il ne s'agit pas d'un même microbe polymorphe, mais bien de deux espèces microbiennes distinctes.

Alvarez et Tavel renoncent à la méthode de coloration pro-

posée par Lustgarten, et emploient la méthode de Ziehl-Neelsen : action de la fuchsine anilinée à chaud, décoloration par l'acide nitrique au tiers. Les bacilles restent aussi franchement rouges.

Mais les bacilles ainsi traités se décolorent complètement si l'on fait agir sur eux l'alcool absolu.

Alvarez et Tavel n'indiquent pas la durée du temps de décoloration.

Ils n'ont pu isoler le bacille en culture pure.

Presque simultanément Matterstock décrivait dans le smegma, dans la matière sébacée de la cicatrice ombilicale un bacille se comportant de la même façon que le bacille d'Alvarez et Tavel.

Bacille de Honsell. — Honsell colore à son tour dans le smegma des bacilles qui résistent bien à l'action décolorante de l'acide nitrique au tiers, mais ne résistent pas à la décoloration par l'alcool.

Alvarez et Tavel, avec M. Cornil ont également employé comme décolorant de leur bacille l'acide tartrique. Le bacille naturellement résiste à cet acide.

Bacille de Doutrelepont et Schutze. — Doutrelepont et Schutze font des constatations analogues à celles d'Alvarez et Tavel.

Il n'est pas besoin d'insister pour démontrer que les bacilles vus par Alvarez et Tavel, Honsell, Matterstock, Doutrelepont et Schutze, sont des bacilles accidentellement acido-résistants. Si après l'action de l'acide nitrique on fait agir l'alcool absolu, ils se décolorent.

Bacille de Stolz. — Stolz rencontre un bacille particulier dans les masses mucilagineuses situées autour de l'orifice ex-

terne de l'urèthre d'une femme qui était atteinte, depuis un accouchement, d'une pyélo-néphrite ascendante.

Ce bacille présente une forme ramifiée en y. Il se colore par les méthodes usuelles. Traité par le liquide de Ziehl, il résiste à la décoloration par le chlorure de sodium à 20 0/0. Il résiste à la décoloration de l'acide nitrique au tiers agissant pendant 10 secondes, mais il est complètement décoloré après 20 secondes de décoloration par cet acide.

Par contre, il résiste pendant une demi-heure à l'action décolorante de l'alcool absolu.

Ce bacille n'a pas été cultivé. Grâce à l'étude consciencieuse de Stolz, il est facile de voir que ce bacille est un bacille accidentellement et faiblement acido-résistant.

Que le chlorure de sodium ne le décolore pas, cela ne doit pas nous étonner d'après l'étude que nous avons faite. Mais il est loin, quoique alcoolo-résistant, de résister comme le bacille de Koch à l'acide nitrique pendant 2 minutes. Au bout de 20 secondes, il n'est plus coloré ; si d'autre part on sait que ce microbe prend les couleurs ordinaires, on sera persuadé que, pas plus que les précédents, ce bacille ne saurait être confondu avec le bacille tuberculeux.

L'inoculation de mucus fut d'ailleurs négative pour les animaux.

Bacille de Laser. — Laser trouve son bacille au niveau de condylomes syphilitiques de l'anús et du scrotum.

Morphologie. — C'est un bacille grêle, fin, quelquefois effilé, parfois incurvé.

Coloration. — Il prend la coloration de Ziehl sur les frottis faits avec les lésions dans lesquelles Laser l'a trouvé. La coloration est pratiquée à chaud par la fuchsine phéniquée ; la dé-

coloration par l'acide sulfurique à 15 ou 20 pour 100, c'est-à-dire à une dilution plus faible que celle qui est usitée d'ordinaire pour le bacille de Koch.

La préparation est ensuite soumise à l'action de l'alcool à 70°, puis recolorée par le bleu de méthylène. Laser ne dit pas combien de temps il laisse agir l'acide sulfurique et l'alcool. Cependant, sur ses préparations, il voit un certain nombre de bacilles franchement colorés en rouge ; d'autres, de morphologie semblable, sont colorés en bleu.

Culture. — Laser ensemence sur de la gélose ensanglantée l'exsudat contenant ces bacilles, et parvient à isoler ceux-ci en culture pure sur ce milieu. Les colonies ressemblent les unes à des colonies de streptocoques, c'est-à-dire qu'elles sont fines, transparentes, tandis que les autres rappellent les colonies de bacille diphtérique, c'est-à-dire qu'elles sont grisâtres, avec un point central opaque.

Les bacilles qui constituent ces colonies prennent les colorants ordinaires, ils gardent le Gram ; enfin ils se colorent par la méthode employée pour les frottis de la même façon, c'est-à-dire les uns en rouge, les autres en bleu.

Ces bacilles ne poussent pas sur la gélatine en piqure ; ils poussent à peine sur le bouillon et la gélose ordinaire, pas du tout sur la pomme de terre ; mais les milieux glycérinés et les milieux sucrés leur offrent un terrain de culture favorable.

Inoculation. — Inoculé dans le péritoine ou sous la peau du cobaye et du rat blanc, ce bacille n'est pas pathogène.

Ce bacille est donc légèrement acido et alcool-résistant, mais il faut bien remarquer que Laser n'emploie pas une méthode rigoureuse. L'acide sulfurique, au lieu d'être dilué au

quart est dilué au cinquième ou au sixième ; l'alcool employé n'est pas l'alcool absolu, mais l'alcool à 70°.

Enfin il faut remarquer que beaucoup de ces bacilles se décolorent, et une fois décolorés, ils se recolorent par le bleu de méthylène. Le bacille de Koch, nous l'avons vu, ne se recolore jamais de cette façon.

Sur les cultures, le bacille de Laser se colore directement par les colorants usuels : ce n'est pas là le fait d'un bacille héréditairement acido-résistant, et nous pensons que si Laser a réussi à lui trouver sur les cultures une légère propriété acido-résistante, c'est parce qu'il l'a cultivé sur des milieux particuliers, additionnés de sang. Là le bacille retrouvait les conditions analogues à celles dans lesquelles il se trouvait dans l'organisme humain.

Bacille de Czaplewski. — Czaplewski, examinant du pus gonorrhéique, y rencontre des bacilles qui se colorent par la méthode de Ziehl, et parvient à les cultiver sur des plaques d'agar nutrosé au sérum.

Morphologie. — « Ils rappellent, dit Czaplewski, la forme des bacilles diphtériques » ; c'est là la seule indication qu'il donne.

Coloration. — Ces bacilles prennent le Gram, et se colorent par les colorants usuels sur les frottis. Colorés à chaud par la fuchsine anilinée, décolorés par l'acide sulfurique à 5 0/0, puis recolorés au bleu, ils gardent une teinte rouge, ou rouge cerise sombre.

Culture. — Czaplewski a réussi à isoler et à cultiver ce bacille sur des plaques d'agar nutrosé au sérum sanguin.

Selon le milieu, la morphologie varie : longs sur sérum nutrosé et pomme de terre, les bacilles sont, sur gélatine, renflés

en massue, incurvés, épais ; sur le sérum de bœuf, courts et granuleux. Ils poussent entre 23 et 37°.

L'aspect des cultures est le suivant. Sur gélatine, l'aspect est celui des colonies de bacille tuberculeux aviaire ; sur sérum de Loeffler, ils poussent sous forme de colonies gris-jaunâtre, humides ; sur agar glycérimé, en colonies gris jaunâtre. Sur le bouillon, ils forment un trouble et se déposent au fond du vase. Sur pomme de terre, la culture se fait mal et ressemble à un enduit de miel.

Czaplewski a montré son bacille à Laser, qui l'a identifié avec celui qu'il avait décrit. La morphologie de ces deux bacilles nous semble cependant différente : le bacille de Laser est fin et grêle, celui de Czaplewski est semblable au bacille diphtérique.

Dans les cultures le bacille de Czaplewski résisterait, selon l'auteur, à l'action de l'acide sulfurique à 5 0/0, de l'acide nitrique à 30 0/0, de l'alcool, de l'alcool sulfurique et de l'alcool chlorhydrique. Il ne se recolore pas par le bleu après avoir été imprégné par le liquide de Ziehl.

L'auteur ne dit pas combien de temps il a laissé agir les agents décolorants ; il ne dit pas non plus sur quels milieux artificiels il a étudié les réactions colorantes de son bacille cultivé.

Nous voulons toutefois faire une remarque : il n'est pas étonnant que ce bacille soit acido-résistant dans les frottis de pus, car Czaplewski décolore par l'acide sulfurique à 5 0/0, c'est-à-dire dilué au vingtième, alors que nous exigeons l'acide sulfurique dilué au quart. A une dilution si étendue l'acide sulfurique n'agit que comme un décolorant très discret, peut-être encore moins que les acides organiques en solution satu-

rée, qui sont, nous le savons, si peu décolorants pour des bacilles bien mordancés.

Sur les cultures le bacille est acido-résistant et alcoolo-résistant ; bien que nous ne sachions pas la durée de décoloration, nous pensons que ce bacille doit cette propriété à ce fait qu'il est cultivé sur un milieu additionné de sérum sanguin (1).

Nous aurions voulu nous procurer cet échantillon de bacille, mais nous n'avons pu l'avoir, non plus que le bacille de Weber, chez Kral.

Bacilles de Neufeld. — Neufeld observe dans le smegma, deux variétés de bacilles morphologiquement différentes.

Bacille I. — Long et grêle, souvent disposé par couple parallèle.

Coloration. — Après l'action de la fuchsine phéniquée ou anilinée, puis de l'alcool chlorhydrique, ou de l'acide sulfurique pendant *quelques secondes*, enfin du bleu de méthylène alcoolique à 10 0/0, le bacille reste coloré en rouge.

Culture. — Comme ses prédécesseurs, Neufeld, pour ensemencher le smegma, choisit un milieu organique, le lait. Il prend un mélange de gélose glycérolisée et de lait dans la proportion de 3 pour 1. Sur ce milieu, il a pu retrouver deux fois le bacille I, mais sans parvenir à l'isoler en culture pure. Les bacilles constituant ces colonies résistaient après l'action du Ziehl à la double décoloration de l'acide et de l'alcool pendant 30 secondes.

(1) Nous reviendrons sur ce fait, mais disons dès maintenant que nous avons réussi très facilement à conférer la propriété acido-résistante assez forte à un bacille diphtérique vulgaire en le faisant végéter pendant 24 heures dans du liquide d'ascite stérile, qui ne renfermait d'ailleurs pas de lui-même d'acido-résistants.

Il n'y a pour nous pas de doute. Ce bacille se colore-t-il par les méthodes ordinaires, cela est probable, mais en tout cas la propriété acido-résistante que Neufeld lui attribue n'est pas réelle. Neufeld décolore pendant « quelques secondes », 30 au plus, alors que nous exigeons 2 minutes, d'après notre expérience personnelle, pour différencier le bacille du smegma du bacille de Koch. Ce type de bacille nous semble donc devoir rentrer dans le groupe des accidentellement acido-résistants qu'une méthode rigoureuse de coloration permettra toujours d'éliminer.

Bacille H. — Ce bacille droit, quelquefois incurvé, gros et trapu, affecte la forme d'un bacille pseudo-diptérique.

Coloration. — Il se colore en rouge avec la même méthode que pour le bacille I.

Culture. — Sur le même milieu on obtient une culture pure de ces bacilles diptéroïdes, qui se colorent en rouge de la même façon : cependant Neufeld remarque que, pour *quelques bacilles* ainsi colorés, beaucoup d'autres de même forme, de même disposition sont colorés en bleu, c'est-à-dire qu'après décoloration par l'acide, ils ont accepté le bleu de méthylène.

D'autre part Neufeld remarque que, en laissant agir l'agent décolorant pendant un quart d'heure, les bacilles ne sont presque plus colorés.

Ce bacille, légèrement acido-résistant sur les frottis, ne l'est presque plus sur les milieux additionnés de lait. C'est le premier type bien étudié de bacille accidentellement acido-résistant, qui isolé sur les milieux usuels, se comporte comme tous les microbes, c'est-à-dire se laisse pénétrer par les colorants ordinaires.

Il ne peut donc pas plus que le précédent être confondu avec

le bacille de Koch ; il répond, comme nous le verrons, à l'un des bacilles dont nous avons nous-même constaté la présence dans le smegma.

Bacille de Fränkel. — Il paraît être identique au précédent. Isolé du smegma, il présente l'aspect d'un bacille pseudo-diphtérique ; il se colore en rouge par la méthode de Fränkel.

Les cultures, sur agar glycérimé, agar sérum, sont grasses, humides, composées de bacilles ayant les mêmes caractères de coloration que sur les frottis.

Fränkel n'indique pas la durée de décoloration employée. Mais il dit que par des repiquages successifs son microbe perd peu à peu la propriété acido-résistante.

Bacille de Weber. — *Morphologie.* — Bâtonnet épais, à extrémités renflées, présentant quelquefois des formes en massue ; il est groupé en palissades, en amas : il se comporte donc comme un pseudo-diphtérique.

Coloration. — Après l'action de la fuchsine phéniquée à chaud et de l'acide nitrique au tiers, le bacille reste coloré.

Culture. — Pensant qu'il fallait offrir à ce microbe un milieu gras, Weber l'a cultivé sur de la gélose additionnée de lanoline, mélange déjà employé autrefois par Gottstein.

Le bacille de Weber sur ce milieu est acido et même alcoolo-résistant. Mais sur les milieux usuels, il perd cette propriété acido-alcoolo-résistante.

Il s'agit donc d'un bacille accidentellement acido-résistant, homologue sans doute des bacilles de Neufeld, Czaplewski, etc.

Quoique Weber n'indique pas la durée de la décoloration dans l'examen sur les frottis, nous pensons que cette résistance, et surtout l'alcoolo-résistance n'est pas très intense.

Møller a décrit aussi un bacille du smegma, — nous le re-

jetons à dessein, comme nous l'avons dit, car ce n'est pas dans le smegma, mais bien dans la sérosité du vésicatoire et dans la sécrétion sébacée de l'ombilic qu'il l'a trouvé. C'est d'ailleurs non pas un bacille accidentellement acido-résistant, mais un véritable bacille tuberculoïde sur lequel nous avons déjà longuement insisté et qui n'a rien à faire ici.

Bacille de Newjadowski et Kedrowski. — Ces auteurs ont isolé du smegma un bacille acido-résistant qu'ils ont pu cultiver sur le milieu de Wassermann (sérum-nutrose-agar) et le milieu de Wertheim.

Ce bacille, extrêmement polymorphe, se présente en même temps sous la forme de bâtonnets, de massues, et même d'étoiles rayonnées rappelant l'ordonnance des grains actinomycosiques.

*
* *

Beaucoup d'autres auteurs encore se sont intéressés à l'examen direct du smegma, sans chercher à isoler le microbe en culture pure. Ils ont porté leur attention sur l'étude de la coloration.

C'est ainsi que Markuse, Lévy et Bitter ont constaté que la résistance des bacilles contenus dans le smegma était réellement assez considérable vis-à-vis des acides. Honsell, Nencki et Podczaski constatent que par contre les bacilles du smegma, qui restent colorés après l'action de l'acide, se décolorent complètement si l'on fait agir l'alcool, et ils conseillent pour différencier dans l'urine les bacilles du smegma du bacille de Koch, de décolorer soit simultanément, soit successivement par l'acide et par l'alcool.

Bunge et Trautenroth, Pappenheim, examinant le smegma,

proposent pour des raisons analogues d'employer l'alcool comme moyen de différenciation du bacille de Koch et de ces bacilles.

Brown considère que les bacilles trouvés par frottis dans le smegma sont plus sensibles à l'action décolorante de l'acide nitrique que le bacille de Koch.

Casper, en décolorant le smegma par l'alcool chlorhydrique et recolorant par le bleu, a vu les bacilles acido-résistants recolorés en bleu-rouge ou en bleu franc (1).

En résumé, on trouve dans le smegma, entre autres microbes, des bacilles acido-résistants qui peuvent se rattacher à deux types :

Le 1^{er} type, bacille fin, grêle, ressemblant au bacille de Koch (Laser, Neufeld I).

Le 2^e type, bacille pseudo-diphthérique, est le bacille de Czaplewski, Fränkel, Neufeld II, Weber.

A côté de ceux-ci il faut noter des types très particuliers comme le bacille de Stolz, bacille en y, qui n'est presque pas acido-résistant, et le bacille de Newjadowski et Kedrowski, qui est actinomycosiforme.

Tous ces bacilles sont accidentellement acido-résistants, et légèrement acido-résistants. En effet, ils ne sont pas sérieusement acido-résistants dans leurs cultures, à moins qu'ils ne soient cultivés dans des milieux spéciaux (sérum, lanoline, etc.).

Acido-résistant, aucun ne l'est d'une façon intense.

Nous l'avons indiqué chemin faisant à propos de chacun d'eux.

(1) Cowie a également signalé dans le smegma des animaux (vache, cheval, rat, cobaye) des bacilles résistant à l'action décolorante légère des acides

Quant à l'alcool-résistance, elle est pour ainsi dire nulle.

Nous avons nous-même examiné un très grand nombre d'échantillons de smegma, que nous avons colorés tantôt par le Ziehl suivi de l'action rapide de l'acide nitrique, tantôt par la méthode de Gabbet, tantôt par la méthode rigoureuse avec décoloration énergique par l'acide nitrique au tiers et par l'alcool. Enfin nous avons fait des colorations directes par le bleu de Unna, le violet phéniqué.

Notre but était de vérifier la réaction colorante exacte des bacilles que l'on rencontre dans le smegma.

Un premier point nous a tout d'abord frappé. C'est que lorsqu'on fait un frottis de smegma, surtout chez la femme, il est exceptionnel qu'on ne trouve pas de bacilles acido-résistants sur les frottis.

Ces bacilles appartiennent à deux types différents. L'un est un bacille grêle, fin, quelquefois granuleux, analogue aux aspects décrits par Laser, Neufeld pour son bacille n° 1 et Alvarez et Tavel.

L'autre est un bacille épais, court, groupé en palissades, en un mot un véritable bacille pseudo-diphtérique, tel que Czaplewski, Fränkel, Neufeld (bac. II), Weber les ont décrits.

Nous avons nous-même pu obtenir deux fois des cultures fugaces sur des milieux additionnés de beurre ou de lanoline, répondant à ce deuxième type (1).

Ces deux types de bacilles se comportent de la même façon vis-à-vis des colorants.

(1) Ajoutons que le smegma n'est pas pathogène pour le cobaye.

1^{re} Préparation :

Ziehl chaud	10 minutes
Acide nitrique	30 secondes
Eau.	

Les bacilles sont bien colorés en rouge.

2^e Préparation :

Ziehl chaud	10 minutes
Acide nitrique aux $\frac{2}{3}$	2 —
Eau.	
Alcool absolu	3 —
Unna	5 —
Alcool absolu.	jusqu'à décoloration

Les bacilles sont complètement décolorés ; tous ont repris la teinte bleue.

Si donc, après avoir coloré par la liqueur de Ziehl à chaud, par l'acide nitrique une préparation de smegma, on pratique une légère décoloration au tiers, on constate que tous les éléments de la préparation sont restés colorés en rouge vif : cellules épithéliales, bacilles, cocci.

Si l'on pousse un peu plus loin la décoloration, on voit que les cellules épithéliales sont encore colorées en rouge et l'on voit à leur surface et dans leur intervalle des bacilles encore nettement rouges, appartenant aux deux types indiqués : bacille fin, bacille pseudo-diphthérique. Les cocci ne sont plus colorés.

Si, enfin, on décolore la préparation pendant 2 minutes par l'acide nitrique puis pendant 3 à 5 minutes par l'alcool absolu, tout est décoloré. Si, enfin, on recolore la préparation par le bleu, les bacilles se colorent en bleu. Il existe donc dans le smegma des bacilles qui sont un peu plus acido-résistants que les cocci, mais ces bacilles ne sont pas énergiquement acido-résistants ni alcoolo-résistants

*
* *

Les bacilles du smegma peuvent souiller très facilement l'urine.

Grünbaum s'est livré à ce point de vue à une statistique intéressante. Tandis qu'il rencontre rarement le bacille du smegma dans l'urine de l'homme, il le voit dans 59 0/0 des cas de l'urine de la femme. Il s'agit ici d'urine recueillie par la miction naturelle. Grünbaum conclut que le meilleur moyen d'éviter la présence du bacille du smegma dans l'urine est de recueillir celle-ci par le cathétérisme.

Ce procédé serait très insuffisant, car Lubarsch a trouvé justement dans une urine recueillie par le cathétérisme un bacille accidentellement acido-résistant. Nous-même avons eu l'occasion d'en constater la présence dans l'urine prélevée par cathétérisme.

Il faut remarquer cependant que lorsqu'on examine d'une part l'urine recueillie par miction et celle recueillie par cathétérisme, le nombre des bacilles qu'on observe est habituellement bien plus grand dans l'urine du bocal que dans l'urine aseptiquement extraite par la sonde.

Il est nécessaire d'avoir à sa disposition une méthode de différenciation bien précise, comme celle que nous proposons.

Dans ces derniers temps on a en effet signalé dans l'urine la présence du bacille de Koch, même au cours de la tuberculose pulmonaire chronique. Cesont L. Fournier et Beaufumé qui, les premiers, ont eu l'idée de rechercher directement le bacille dans l'urine des tuberculeux par la centrifugation et l'examen direct du culot de centrifugation obtenu. Ils ont trouvé 15 cas

positifs sur 15 — ce qui équivaldrait à affirmer la présence constante du bacille de Koch dans l'urine (1).

Moins heureux que les auteurs précédents, nous avons examiné 20 échantillons d'urines dont 19 prélevés sur des tuberculeux, dans le but de différencier les bacilles du smegma des bacilles de Koch. Malheureusement, nous n'avons pas trouvé ces derniers une seule fois. Mais par contre dans trois cas nous avons rencontré des bacilles du smegma.

Le premier de nos cas positifs a trait à une petite fille. Cette enfant, au cours d'une infection fébrile, est prise de pollakiurie avec douleurs vésicales. L'examen de l'urine recueillie par la miction montre, après centrifugation et coloration par le Ziehl à chaud suivie de la décoloration légère par l'acide nitrique au tiers, la présence d'une notable quantité de bacilles nettement colorés en rouge. Les uns sont courts et trapus, présentant des renflements terminaux : ils ont l'aspect de bacilles pseudo-diphthériques, les autres sont fins et déliés, et ressemblent morphologiquement au bacille de Koch.

Le culot de centrifugation de l'urine recueillie par cathétérisme est étalé sur des lames qui sont envoyées à M. Bezancon, qui nous les confie.

L'une de ces lames, colorée par le Ziehl et décolorée pendant quelques secondes par l'acide nitrique, nous permet de retrouver les deux espèces bacillaires, ayant nettement résisté à la décoloration par l'acide nitrique.

Nous soumettons une deuxième lame à une décoloration par l'acide nitrique de 2 minutes suivie de l'action de l'alcool absolu et de la recoloration au bleu.

(1) Ces auteurs ont coloré par le Ziehl, et décoloré par l'acide sulfurique au quart, sans alcool.

Sur cette préparation, nous voyons que tout bacille coloré en rouge a disparu. Nous ne pouvons pas en déceler un seul, ni d'une forme, ni de l'autre. Par contre, nous voyons des bacilles colorés en bleu très pâle, affectant les deux types de bacilles précédemment indiqués.

Un nouvel examen de l'urine recueillie par cathétérisme, après savonnage de la vulve, fut pratiqué, et les préparations furent soumises à la décoloration simultanée énergique de l'acide et de l'alcool. Il n'y avait point de bacilles.

Cette petite fille a guéri de sa cystite simple en quelques jours, et s'est maintenue depuis lors en bonne santé.

Le second cas se rapporte à une femme que nous avons pu observer dans le service de notre maître le Dr Widal, à l'hôpital Cochin. Il s'agit d'une femme de 26 ans, présentant une caverne tuberculeuse dans le sommet du poumon droit, des symptômes de néphrite chronique avec de l'albuminurie. Femme très cachectique.

L'urine du bocal est centrifugée, et l'on y trouve, sur une première préparation colorée à l'hématéine et l'éosine, des cylindres épithéliaux et colloïdes, des cellules mononucléaires, des lymphocytes, pas de globules de pus.

Une seconde préparation colorée avec le liquide de Ziehl à chaud 10 minutes, puis décolorée légèrement par l'acide nitrique au tiers, nous montre des bacilles nettement colorés en rouge, tantôt isolés, tantôt groupés en véritables paquets ; les uns sont grêles et simulent à s'y méprendre le bacille de Koch, les autres sont longs, filamenteux : tous sont colorés d'une façon régulière.

Nous traitons la troisième lame, faite avec le même dépôt de centrifugation, par le Ziehl à chaud pendant 10 minutes.

l'acide nitrique au tiers, 2 minutes, puis l'alcool, le bleu de Unna et de nouveau l'alcool absolu.

Nous retrouvons les mêmes bacilles, avec la même forme, la même variété, la même disposition, mais ils sont *colorés en bleu*. Il est évident que nous ne nous trouvons pas en présence du bacille de Koch.

L'urine recueillie par le cathétérisme est examinée de la même façon, mais il nous est impossible d'y déceler le moindre bacille.

La malade a succombé quelques jours après et nous avons trouvé à l'autopsie des reins présentant des lésions de néphrite diffuse, sans trace de tuberculose rénale, c'est-à-dire sans qu'il y ait de lésions macroscopiquement tuberculeuses.

Le troisième cas est calqué sur le précédent. Il s'agit d'un phthisique chez lequel l'urine recueillie par la miction présentait des bacilles colorés en rouge par le Ziehl après simple décoloration par l'acide nitrique agissant rapidement, mais qui se recoloraient en bleu, après une méthode rigoureuse de décoloration par l'acide et l'alcool.

Dans les autres cas, nous n'avons pas pu trouver à l'examen direct de bacilles acido-résistants ni de bacilles tuberculeux.

Tous les essais de culture que nous avons faits ne nous ont jamais permis d'isoler de bacille acido-résistant — sur les milieux — soit du smegma, soit des urines.

Le diagnostic bactériologique repose donc sur une décoloration rigoureuse, qui permette d'éliminer tous les pseudo-bacilles acido-résistants que nous venons de signaler.

**§ 2. — Les bacilles « acido-résistants » des
sécrétions sébacées.**

Les premiers bacilles acido-résistants signalés dans les sécrétions cutanées autres que le smegma, furent trouvés par Bienstock, dans le cérumen.

Bienstock, ayant coloré des frottis de cérumen par la méthode de Ziehl, trouva des bacilles qui restaient colorés en rouge. Ces bacilles étaient courts, trapus, renflés à leurs extrémités. C'était l'aspect du bacille pseudo-diphthérique que nous retrouverons dans tous les autres cas signalés par les auteurs.

Gottstein retrouva le même bacille que Bienstock, avec ses mêmes réactions colorantes. Ces deux auteurs constatèrent que le bacille résiste mal à l'action décolorante de l'alcool, et pour le différencier du bacille de Koch, ils proposèrent de faire agir avant la coloration sur la lamelle de la lessive de soude additionnée de 50/0 d'alcool qui saponifierait et dissoudrait les corps gras qui imprègnent le bacille du cérumen, mais laissent intact le bacille tuberculeux. L'emploi de ce procédé est assez délicat, car lorsqu'on traite ainsi les préparations tous les éléments organiques sont détruits par la lessive de soude, qui se transforme en savon alcalin, et lorsqu'on lave la lame, tout ce qui était à sa surface disparaît.

Nous avons examiné du cérumen, et nous y avons retrouvé facilement le bacille de Bienstock : c'est un bâtonnet un peu plus gros, nous semble-t-il, que le bacille de Koch, un peu renflé à ses extrémités ; il prend la couleur d'une façon très nette et uniforme.

Nous préférons, pour le différencier du bacille tuberculeux,

l'application au cérumen d'une décoloration énergique par l'acide nitrique au tiers et l'alcool, suivie de la recoloration au bleu de Unna. Le bacille au bout de 2 minutes d'action de l'acide est décoloré. Recoloré par le bleu, il se teinte en bleu très pâle.

Laabs a signalé, comme nous l'avons dit, des bacilles dans les sécrétions de la peau.

Preisich et Schutze décrivent un bacille diphtéroïde qu'ils ont trouvé dans la sécrétion sébacée de la cicatrice ombilicale.

Il nous a été facile également de retrouver ce ou ces bacilles de la matière sébacée.

Lorsqu'on a fait une préparation de sébum sur la lame, et qu'on le colore par le Ziehl, on observe, après avoir décoloré légèrement par l'acide nitrique au tiers sur la préparation, des cellules épithéliales, qui sont colorées en rose, quelquefois même en rouge par le Ziehl. A leur surface, et dans l'intervalle de ces cellules, on aperçoit une multitude de microbes, les uns cocciformes, ce sont les plus rares, les autres, bacillaires, ce sont les plus nombreux; ceux-ci sont ici isolés, là groupés en amas, pressés, en palissades, suivant l'expression consacrée qui sert à désigner la disposition caractéristique du bacille diphtérique. Tous ces éléments sont franchement rouges, brillants.

Vient-on à décolorer une telle préparation par l'alcool, immédiatement tous les bacilles se décolorent. Il en est de même si l'on décolore pendant 2 minutes par l'acide nitrique au tiers. Enfin si l'on recolore par le bleu de Unna, ces bacilles se teignent en bleu rosé, teinte métachromatique.

Parfois même les cellules sont plus colorées et plus acido-résistantes que les bacilles. Ces derniers sont incontestablement des bacilles accidentellement acido-résistants.

Ces bacilles sont intéressants en ce qu'ils peuvent donner lieu à des erreurs de diagnostic assez curieuses.

Le *bacille de Marzincescu* n'est sans doute qu'un de ces bacilles. Marzincescu a trouvé ce microbe sur un malade qui présentait une ulcération de la joue pour laquelle il venait dans un service chirurgical demander des soins. On constatait un empatement irrégulier de la région de la joue droite, qui s'étendait sur les parties molles, et mesurait 4 à 5 centimètres de grand axe. Au milieu de cette tumeur, il existait une ulcération à bords épaissis, qui donnait issue à un écoulement purulent.

En colorant par le Ziehl des frottis de ce pus, on trouva tout d'abord des cocci en chaînettes, et un certain nombre de bacilles fins qui ne se décoloraient pas par l'action de l'acide, même lorsqu'on laissait celui-ci longtemps en contact avec la préparation. Mais l'auteur ayant conçu des doutes sur l'authenticité de ce bacille, traita ses lames par l'alcool absolu. Les bacilles s'étaient presque totalement décolorés, quelques-uns seuls restaient bien rouges, mais ils perdaient leur coloration petit à petit sous l'action prolongée de l'alcool. Ces bacilles, d'autre part, offraient un polymorphisme qui n'est pas habituel chez le bacille tuberculeux.

La biopsie montra bien qu'il ne s'agissait pas de tuberculose, mais bien d'un épithélioma de la peau développé aux dépens des glandes sudoripares. Les bacilles se tenaient seulement dans les couches superficielles de la peau, et principalement dans les follicules pileux. Enfin les préparations de Ziehl qui avaient été recolorées au bleu de méthylène présentaient à la fois des bacilles colorés en bleu, et quelques bacilles munis encore de quelques grains rouges.

Bacille de Møller, dit du smegma. — Citons sans y revenir que Møller a trouvé dans la sérosité d'un vésicatoire et dans le sébum de l'ombilic un véritable bacille tuberculoïde qui, lui, est acido et alcool-résistant sur les frottis aussi bien que dans ses cultures.

Ce fait nous montre que sur la peau, en dehors du bacille de Koch qu'on a signalé, il peut exister, et à la fois des tuberculoïdes et des acido-résistants accidentels, que l'on éliminera par une décoloration énergique par l'acide au tiers et l'alcool absolu.

§ 3. — Les bacilles acido-résistants des épanchements pleuraux et du sang.

Spina, le premier, a signalé la présence de bacilles acido-résistants dans le sang. Contradictueur de Koch, il niait la spécificité du bacille découvert par le savant allemand. Ayant abandonné du sang, il le laissa se putréfier puis l'examina en le colorant par la méthode d'Ehrlich, il y trouva des bacilles acido-résistants, et présenta l'objection à Koch. Le bacille de Koch n'avait aucune valeur, puisqu'il suffisait, disait-il, de laisser putréfier du sang à l'air, pour que le bacille de Koch s'y multiplie à foison.

Il s'agissait non pas du bacille de Koch, mais sans doute de bacilles acido-résistants. On conçoit qu'animé des idées que nous rapportons, Spina ne se soit pas attaché à trouver des méthodes spéciales pour distinguer le bacille qu'il avait trouvé du bacille tuberculeux.

Avec M. Bezançon et M. Griffon, nous avons signalé la présence de bacilles acido-résistants dans le sang. Rappelons

que nous nous proposons de rechercher le bacille de Koch dans le sang par une méthode d'homogénéisation du caillot sanguin par la lessive de soude diluée agissant à l'ébullition. Avec ce procédé nous avons pu déceler le bacille tuberculeux par l'examen microscopique du sang, d'une part dans la tuberculose expérimentale, d'autre part dans la tuberculose humaine.

Nous avons pris deux lapins qui avaient reçu la veille sous la peau une inoculation de culture de bacille tuberculeux de provenance humaine, et nous avons recherché le bacille dans le sang recueilli du vivant de l'animal : le résultat fut positif dans deux cas. Nous avons inoculé un cobaye dans les mêmes conditions et l'examen du sang du cœur décela aussi la présence de bacilles. Chez l'homme, la recherche du bacille dans le sang nous donna aussi — une seule fois — mais à deux reprises différentes un résultat positif.

Dans un cas de pleurésie séro-fibrineuse, le caillot traité de la même façon nous montra aussi des bacilles de Koch.

Sur toutes nos préparations les bacilles présentaient des caractères typiques des bacilles tuberculeux : bacilles grêles, uniformément colorés ou granuleux, disposés parallèlement ou en V, voire en petits amas.

Le nombre des bacilles trouvés était toujours très restreint.

Ayant alors recueilli le sang d'une ventouse scarifiée chez un tuberculeux, nous y trouvâmes des bacilles acido-résistants groupés en amas compacts, qui nous en imposèrent pour des cultures.

C'est dans une nouvelle série de liquides pleuraux que nous avons rencontré les plus beaux spécimens de bacilles accidentellement acido-résistants.

Dans un premier cas, nous trouvons, à côté de bacilles grêles et fins, d'autres bacilles, en très grand nombre, mesurant plus de 10 μ de long, parfois épais, souvent onduleux, pouvant prendre l'aspect de filaments : ces bacilles étaient tantôt isolés, tantôt intriqués en amas.

Mais, fait remarquable, leur nombre, c'est-à-dire le nombre des bacilles colorés en rouge, était beaucoup plus considérable comparativement sur les préparations décolorées légèrement par la méthode de Gabbet que sur celles décolorées par l'acide nitrique au tiers.

Ce n'étaient pas là les caractères du bacille de Koch.

Pensant alors que le liquide a été contaminé par l'air au cours des manipulations, nous abandonnons un liquide pleural dans une éprouvette dans le laboratoire. Au bout de quelques jours, on observe à la surface du liquide un voile blanchâtre, peu cohérent, glutineux, et dans le fond du liquide, un dépôt blanc gélatineux.

Le voile, examiné et coloré par la méthode de Gabbet, montre :

a) Des bacilles longs, enchevêtrés en paquets de 2 ou 3, les uns en X, ou en V, les autres isolés ; ils sont plus gros que le bacille de Koch, mais prennent franchement le Ziehl ;

b) Des bacilles courts, gros, trapus, disposés en palissade, à la façon du bacille diphtérique, se comportant au point de vue de la coloration d'une façon identique aux précédents ;

c) Des cocci, arrondis, formant une nappe ininterrompue, colorés en bleu.

Nous colorons alors des fragments du même voile avec le liquide de Ziehl à chaud, et nous poussons énergiquement la décoloration par l'acide nitrique au tiers ; nous décolorons

ensuite par l'alcool absolu, et nous examinons la préparation. Il est impossible de retrouver les formes bacillaires que nous avons vues, elles ont disparu sous l'action de l'alcool.

Dans un second cas, recueilli aseptiquement, on fait des frottis sur les lamelles avec le caillot fibrineux.

Ces frottis montrent de nombreux bacilles à type pseudo-diphtérique, à extrémités renflées, et possédant des grains de chromatine, ils sont souvent granuleux. Enfin ils se groupent parallèlement, ou bien en V, en X. Mais, ces bacilles, traités par la méthode de Gabbet, sont colorés en rouge. Traités alors par la méthode énergique de décoloration, ces bacilles se décolorent.

Le liquide renfermant ce bacille pseudo-diphtérique est de nouveau abandonné dans le laboratoire, et quelques jours après nous trouvons un voile à sa surface, voile renfermant un streptothrix muni de renflements latéraux en massue, en crosse. Ce streptothrix prend bien le Ziehl.

Nous inoculons ce cobaye avec 2 centimètres cubes de *voile*, c'est-à-dire une quantité énorme, sous la peau de la cuisse et nous le sacrifions 3 mois et 20 jours après l'inoculation, c'est-à-dire un temps suffisant pour permettre une généralisation tuberculeuse. L'animal n'a ni chancre, ni adénopathie. La rate, le foie, les poumons sont normaux.

En appliquant une méthode de décoloration énergique par l'acide nitrique au tiers, dans les cas expérimentaux, nous retrouvons le bacille tuberculeux. Nous trouvons en employant la méthode de Gabbet, dans des liquides (sang ou sérosité pleurale), des bacilles d'une forme et d'un groupement absolument différents du véritable bacille de Koch; ces bacilles rentrent dans le cadre des bacilles accidentellement acido-résistants.

Dans un autre cas, nous avons traité du sang abandonné dans le laboratoire depuis plusieurs jours par la méthode d'inoscopie de Jousset. Nous avons pratiqué la digestion du caillot bien exprimé dans un linge et réduit à quelques filaments de fibrine teintée de rose. En deux heures à l'étuve à 50° la digestion était terminée. Les préparations faites avec le culot de centrifugation nous ont montré, l'une décolorée légèrement par l'acide nitrique au tiers, des cocci colorés en rouge, et surtout de gros bacilles diphtéroïdes, nettement teintés de rouge. On retrouve ces mêmes bacilles colorés en bleu sur les préparations décolorées énergiquement pendant deux minutes par l'acide nitrique au tiers, puis ensuite par l'alcool.

Nous ne citerons pas d'autres cas, qui sont tous calqués sur celui-ci.

La question ne manque pas d'intérêt pour le diagnostic du bacille de Koch dans les épanchements pleuraux.

On sait que M. Jousset a proposé une méthode de digestion artificielle de la fibrine, l'inoscopie, qui permet de rechercher directement dans le liquide pleural, les bacilles de Koch.

Nous avons, avec MM. Bezançon et Griffon, utilisé dans le même but le procédé de Biedert fondé sur l'action dissolvante des alcalis étendus sur la fibrine.

M. Jousset pense que dans certains cas, les bacilles tuberculeux des épanchements pleuraux ne seraient pas aussi acidorésistants que les bacilles des crachats par exemple (1), et dans ses premières communications relatives à l'inoscopie, il recommande de ne point pousser trop loin la décoloration. Il employait lui-même la méthode de Gabbet.

(1) C'est aussi l'opinion de Lagriffoul.

Comme les pseudo-bacilles acido-résistants que nous avons signalés dans les épanchements pleuraux et dans le sang, ont justement pour caractère de résister à la méthode de Gabbet et aux décolorations hâtives en général, l'emploi de ces procédés expose à prendre pour du bacille de Koch ce qui n'en est pas.

D'autre part M. Jousset a décrit dans les épanchements pleuraux des formes de bacilles tuberculeux, renflées, ramifiées, telles qu'on en voit par hasard dans de très vieilles cultures.

Le diagnostic est encore rendu plus difficile ainsi, car les pseudo-acido-résistants que nous avons vus se développer en voile à la surface des épanchements pleuraux, affectaient justement ces formes de streptothrix ramifiés, ou bien des aspects renflés de pseudo-diphthériques. Nous n'avons jamais vu nous-même des bacilles tuberculeux avérés prendre ces formes anormales

Comme d'autre part, Galtier a réussi à conférer à des microbes ordinaires la propriété acido-résistante en les faisant végéter en commensalisme avec le bacille de Koch, et comme nous même nous avons pu voir ces bacilles (bacille diphthérique de Lœffler)ensemencés dans des liquides séro-fibrineux préalablement stérilisés, se comporter comme les bacilles pseudo-acido-résistants, c'est-à-dire rester colorés en rouge avec les décolorations hâtives ou la méthode de Gabbet, il nous semble impossible de distinguer ces bacilles pseudo-acido-résistants des bacilles tuberculeux, si l'on n'emploie pas dans la recherche de ceux-ci une méthode rigoureuse.

On a prétendu que le suc gastrique artificiel de la lessive de soude pouvait altérer les bacilles dans leurs formes et dans leur colorabilité. Cette opinion est erronée, et lorsqu'on traite

comme nous l'avons fait des fragments de culture, ou des crachats bacillifères par la méthode de Jousset (suc gastrique artificiel fluoré) ou par le procédé de Biedert (1), les bacilles ne sont pas altérés, et ils ont gardé leur double propriété acido et alcool-résistante énergique.

Nous pensons donc que, en dehors des cas où l'on constate des bacilles énergiquement acido et alcool-résistants, le doute doit persister, et la question être résolue soit par la culture, soit par l'inoculation au cobaye.

§ 4. — Les bacilles acido-résistants de l'expectoration.

Le fait qu'on peut rencontrer dans l'expectoration des bacilles acido-résistants autres que le bacille de Koch, est peut-être plus important encore. Dans les pleurésies, on a à sa disposition un autre moyen rapide, l'examen cytologique, tandis que lorsqu'on réclame à l'examen bactériologique un renseignement que la clinique n'a pu fournir dans le cas d'une affection pulmonaire, il faut savoir si l'on peut accorder toute confiance à l'examen des crachats.

Lors de la discussion sur ce sujet à la Société médicale des hôpitaux, ce fut la préoccupation principale de M. Chauffard. M. Gouget sema le doute dans les esprits en rapportant une observation intéressante sur laquelle nous allons revenir.

Nous verrons que tous les bacilles que l'on a rencontrés dans les affections pulmonaires, à l'exception d'un seul, le ba-

(1) Rappelons que la quantité de lessive de soude est de 5 gouttes pour 30 centimètres cubes, quantité très faible.

cille tuberculoïde isolé *une fois* par Mme Rabinowitsch, tous les autres bacilles rencontrés ne sont réellement pas acido et alcool-résistants.

Il faut cependant faire une exception des plus curieuses pour le bacille de Møller. Møller, qui étudie les bacilles tuberculoïdes, trouva un jour dans ses crachats une multitude de bacilles acido et *alcool-résistants*.

Il est incontestable que les conditions sont ici des conditions presque expérimentales, des conditions d'exception, instructives en ce fait que cela nous fait supposer à l'un des bacilles tuberculoïdes étudiés par Møller (bacille du vésicatoire, bacille de Thimothée, Gras-bacillus, Mist-bacillus) des propriétés légèrement pathogènes. Cela n'implique en rien la règle que nous posons, et cela nous montre que l'étiologie clinique doit toujours s'associer aux méthodes de laboratoire, dans le diagnostic définitif des maladies.

Voici ce que dit Møller à propos de la curieuse bronchite dont il a souffert.

Bacille de Møller. — « L'hiver dernier, dit A. Møller, souffrant d'une violente bronchite aiguë, j'expectorai pendant quatre jours au milieu de mes crachats, des grumeaux longs, d'un blanc grisâtre, qui contenaient, outre d'autres bactéries, de nombreux bacilles résistant à la décoloration par les acides et par l'alcool. Ils poussaient *sur agar* glycérimé au bout de trois ou quatre jours et formaient une colonie nettement visible, puis la végétation cessait; je ne réussis pas à obtenir ces bacilles résistant aux acides en culture pure. Avec ma bronchite, ces bactéries disparurent de mon expectoration ».

Spina, le premier, signala des bacilles acido-résistants dans les crachats d'individus non tuberculeux, mais, comme pour

le sang, loin de chercher à les différencier du bacille de Koch, il chercha plutôt à identifier celui-ci à des microbes vulgaires.

Les bacilles rencontrés dans l'expectoration se trouvent dans les cas de bronchectasie, dans la gangrène pulmonaire, enfin dans des affections autres que ces maladies.

Les bacilles rencontrés dans la bronchectasie sont les suivants :

Bacille de Lichtenstein et Milchner. — La malade observée par Lichtenstein présente des signes de caverne pulmonaire ; il examine les crachats et trouve des bacilles longs et grêles, parfois réunis en amas, qui colorés par le Ziehl sont acido-résistants, mais ne résistent pas à l'action de l'alcool pendant quelques secondes.

Les cobayes inoculés avec ces crachats ne présentent pas de lésions de tuberculose généralisée. Mais l'un d'eux fait un abcès caséeux au point d'inoculation, abcès dans lequel on retrouve les mêmes bacilles avec leurs mêmes caractères. Ces cobayes n'ont pas réagi à la tuberculine.

Un an plus tard, la malade se trouvant dans le service de Milchner, succombe présentant « tous les dehors de la tuberculose pulmonaire, mais avec une expectoration renfermant des bacilles qu'a déjà décrits Lichtenstein ».

Le poumon est exempt de toute lésion tuberculeuse, mais il est le siège de dilatations bronchiques étendues, avec une caverne bronchectasique à la base gauche.

Le bacille de Lichtenstein-Milchner se comporte donc comme un accidentellement acido-résistant. Il n'est pas alcool-résistant, et il n'est pas pathogène pour le cobaye.

Bacille de Frænkel de la pneumonie avec dilatation bronchique.

Il s'agit d'un malade âgé de 40 ans avec une sténose bronchique provoquée par un anévrisme de l'aorte thoracique, avec pneumonie chronique secondaire ; dans les crachats il trouve, par la méthode de Gabbet, des bacilles ressemblant au bacille de Koch. L'examen microscopique, ultérieurement pratiqué, des poumons du malade ne permit pas de trouver une trace quelconque de tuberculose.

Fränkel ne donne pas d'indication supplémentaire. Remarquons que ces bacilles ont été colorés par la méthode de Gabbet, sans qu'on sache pendant combien de temps agit la décoloration.

Dans la gangrène pulmonaire, les auteurs ont signalé de nombreux bacilles.

Bacille de Pappenheim. — Pappenheim, indécis sur la nature de l'affection dont souffrait un de ses malades, eut l'idée d'examiner ses crachats par la méthode de Gabbet, et il y découvrit une multitude de bacilles colorés en rouge, et à ce moment, il porta le diagnostic de tuberculose pulmonaire.

Le malade ayant succombé, il ne trouva à l'autopsie aucune trace de tuberculose, mais un petit abcès gangréneux dans l'un des poumons. Le liquide épais et purulent de cet abcès contenait les mêmes bacilles que ceux rencontrés dans l'expectoration. Il trouva les mêmes bacilles dans le mucus des grosses bronches, de la trachée, du larynx. Les essais de culture furent infructueux.

Bacille de Fränkel. — « J'ai observé, dit Fränkel, des cas de gangrène pulmonaire avec des pseudo-bacilles tuberculeux dans les crachats. Tout d'abord je tombai dans la même erreur que Pappenheim pour ses malades, mais le résultat des autopsies me détrompa ; il était impossible dans ces

cas de relever la moindre trace de tuberculose. Je fus ainsi conduit à considérer les microbes en question comme des *saprophytes* inoffensifs appartenant au groupe des bacilles du *smegma*. Leur présence dans l'expectoration de nos malades tenait vraisemblablement à ce que les crachats étaient riches en acides gras, surtout en myéline ; cela rappelle les expériences de Bienstock et de Gottstein. »

Bacille de Gouget. — Gouget communique à la Société médicale le cas suivant : Chez un malade qui à la suite d'une *vomique* crachait du pus très fétide, j'hésitai entre une gangrène pulmonaire et une pleurésie putride. L'examen des crachats ayant montré des bacilles fins qui restaient colorés par la méthode de Ziehl, je conclus à un *empyème* tuberculeux ayant subi la transformation putride. Le malade succomba à une hémoptysie foudroyante et l'autopsie établit qu'il s'agissait d'une gangrène pulmonaire sans pleurésie, sans tuberculose. Je recueillis un peu de liquide du foyer gangréneux pour en étudier les espèces microbiennes, et j'y retrouvai des bacilles prenant le Ziehl ; je constatai toutefois qu'ils résistaient moins à la décoloration par les acides que le bacille tuberculeux.

Il est fâcheux que M. Gouget n'ait pas décoloré par l'alcool. Il est probable que les bacilles qu'il observait auraient complètement disparu.

Bacille d'Ophüls. — Dans un cas de gangrène pulmonaire, Ophüls trouve un petit bacille grêle, plus ou moins incurvé, souvent ramifié, le plus habituellement disposé en amas.

Ce bacille est acido-résistant vis-à-vis de l'acide sulfurique, mais il se décolore par l'action de l'alcool et de l'acide. Ce bacille rentre donc dans la classe des accidentellement acido-résistants.

Bacille de Mayer. — Mayer, dans 50 cas sur 58, rencontre dans les crachats de gangrène pulmonaire un bacille allongé, filamenteux, parfois ramifié, qui résiste bien aux acides, mais ne résiste pas à la décoloration par l'alcool.

Il a fait des cultures sur les milieux usuels ; ce bacille n'est pas pathogène pour le cobaye.

Ce bacille streptothrix rentre dans la classe des accidentellement acido-résistants.

Bacille de Folli. — Sur six cas de gangrène pulmonaire qu'il examina bactériologiquement, Folli trouva, dans trois d'entre eux, des bacilles « résistant aux acides, qui pouvaient, grâce à cela, être confondus avec le bacille de la tuberculose ».

OBSERVATION 1. — Jeune fille de dix-neuf ans ; tuberculose dans ses antécédents héréditaires ; personnellement, plusieurs fois elle avait souffert de bronchites chroniques, elle est reçue à l'hôpital de Parme pour bronchite aiguë.

L'affection actuelle avait débuté par des frissons répétés. A l'auscultation : à gauche, souffle caverneux avec râles sonores. Expectoration fétide, couleur jus de pruneaux. Examen microscopique selon la méthode Gabbet : on décèle des bacilles colorés en rouge, en tout ressemblant au bacille de Koch. On porte à cause de cela le diagnostic de tuberculose pulmonaire.

A l'autopsie : au lobe supérieur du poumon gauche, caverne de gangrène pulmonaire ; aucune trace de tuberculose.

OBSERVATION 2. — Emilie, sept ans.

Affection actuelle : début par céphalée, fièvre assez forte, vomissements, diarrhée avec matières muqueuses et très fétides, toux plutôt sèche.

Examen. — Dents cariées, gencives fongueuses. Langue humide, non saburrale. Au cou, à gauche, cicatrices de ganglions ayant suppuré.

Aux poumons : son pulmonaire normal ; respiration rude, râles sous-crépitaunts assez nombreux aux bases.

Toux plutôt sèche, déchirante.

Au cœur : bruits clairs ; 120 systoles à la minute

P. 120.

F. 38° 3.

Evolution. -- Il apparaît un processus gangréneux au niveau de la première molaire supérieure gauche. L'haleine devient très fétide. La fièvre atteint 41° 2. L'état général devient excessivement grave ; les signes pulmonaires restent les mêmes. Pouls très fréquent, petit ; collapsus ; mort après dix jours de séjour à l'hôpital.

Autopsie faite vingt-quatre heures après la mort :

Au niveau des molaires supérieures gauches, gangrène de la gencive. Rebord alvéolaire découvert et en partie nécrosé.

Sur la muqueuse du larynx et de la trachée, mucus jus de pruneaux.

Sur la plèvre viscérale : plaquettes de couleur vert sale. En rapport avec ces plaques, sous la plèvre, exsudat fibrineux.

A la coupe des poumons, nombreux foyers de gangrène du volume d'une noisette à un œuf de pigeon. Quelques-uns de ceux-ci sont au début de leur évolution et présentent l'aspect d'un infarctus dont le centre va en se ramollissant ; ils ont une coloration gris rougeâtre. D'autres, plus vieux, ne contiennent plus que des lambeaux de tissu pulmonaire et un liquide très fétide. Autour de ces foyers : tissu pulmonaire hépatisé.

Rate : doublée de volume, congestionnée, un peu molle. Tous les autres organes sont normaux.

Cause de la mort : stomatite gangréneuse avec gangrène pulmonaire bilatérale par métastase.

Préparations microscopiques. — On colore d'abord les préparations par le bleu de Loeffler (fuchsine phéniquée étendue de violet de gentiane) ; on voit surtout des micro-organismes à forme bacillaire, courts, rectilignes ; quelques filaments.

Les bacilles sont souvent agglomérés. Par le Gram, quelques éléments restent uniformément colorés ; la plupart restent colorés seulement à leurs deux extrémités.

Par la méthode de Ziehl-Neelsen et par celle de Gabbet, un certain nombre de bacilles restent colorés en rouge et peuvent en imposer pour le bacille de Koch ; jamais de formes granuleuses ; la teinte est plus claire que lorsqu'il s'agit des bacilles de Koch ; les bacilles sont de la même couleur que le sang artériel ; rarement isolés, ils ont des extrémités un peu effilées et sont groupés en faisceaux ou disposés en longs fils. Les bacilles sont décolorés par l'acide tartrique à 1/20 ou 1/40, agissant sur eux pendant 5 minutes. De même, ils sont facilement décolorés par la méthode de Gabbet, si on les a préalablement laissés pendant 10 minutes dans une solution alcoolique de soude. Dans les mêmes conditions, le bacille de Koch ne se décolore pas.

Dans les essais de culture on ne put obtenir que des staphylocoques, mais jamais aucun élément résistant à la décoloration par les acides.

Dans les tissus on trouva des cellules embryonnaires, des vaisseaux thrombosés, des cocci colorables par la méthode de Gram, des bacilles que cette dernière décolorait, mais qu'on pouvait colorer par le procédé de Weigert et qui ne restaient pas rouges avec les procédés de Ziehl ou de Gabbet.

OBSERVATION III. — Luiggi M..., 66 ans. Au poumon droit, hépatisation de presque toute la moitié supérieure du lobe inférieur avec un noyau de gangrène purulente, gros comme un œuf de poule ; odeur infecte.

Dans ce foyer, bacilles ne restant pas colorés après le Gram.

Par la méthode de Gabbet, ils se colorent en rouge vineux ; ils sont rectilignes, assez gros, un peu plus courts que le bacille de la tuberculose ; souvent ils contiennent un petit espace clair un peu allongé, en forme de nacelle ; ils sont le plus souvent en chaînettes ou réunis entre eux par 4 ou 5. Ils n'ont pas pu être obtenus en culture pure.

Folli, qui ne considère ces bacilles que comme des microbes accidentellement acido-résistants, dit qu'on peut les différencier facilement du bacille de Koch, en décolorant par l'acide tartrique. Ces bacilles sont donc bien peu acido-résistants, et nous pensons qu'ils

ne doivent pas résister non plus à la double décoloration énergique acide et alcoolique que nous proposons.

Bacille de Zahn. — Enfin citons les bacilles rencontrés dans d'autres cas que la gangrène et la broncheectasie :

OBSERVATION (résumée). — Jeune fille de 18 ans ; rien de particulier dans les antécédents héréditaires ou collatéraux ; assez bonne santé habituelle. A l'apparence d'une chlorotique ; mauvais état général ; à l'auscultation du cœur, signes d'insuffisance mitrale : la malade tousse un peu ; quelques râles aux sommets des poumons. On fait l'examen bactériologique des crachats, où l'on trouve *des bacilles dont les dimensions, la forme, la réaction colorante sont celles du bacille de la tuberculose.*

Diagnostic porté pendant la vie : insuffisance mitrale et tuberculose pulmonaire.

Bientôt l'état général s'aggrave et la malade succombe.

L'examen nécropsique révèle, à part la lésion cardiaque, de l'atélectasie pulmonaire, un peu de congestion de la base des poumons, quelques adhérences au niveau de la plèvre droite, mais aucune lésion tuberculeuse.

Il est impossible d'interpréter ce cas de Zahn, où les réactions colorantes sont indiquées insuffisamment.

Bacille de Flexner (Pseudo-tuberculose humaine). — Flexner a eu l'occasion d'observer chez un homme une affection à tubercules ayant atteint les poumons et le péritoine, où il rencontra des micro-organismes en forme de streptothrix, résistant à la décoloration par les acides et par l'alcool, qu'il n'obtint pas en culture pure.

OBSERVATION DE FLEXNER. — Homme de la race nègre, 70 ans. Induration très prononcée et étendue des deux poumons.

Tous les autres symptômes de la tuberculose pulmonaire ; on ne peut pas avoir de crachats.

A l'autopsie : corps un peu émacié.

Poumons volumineux, adhérents, en avant, l'un à l'autre, pas d'adhérences à la paroi.

Poumon gauche : points indurés, grisâtres, séparant des portions de tissu nécrosé et des cavités qui contiennent des produits de désintégration. Pas d'encapsulation des lésions, œdème aux endroits non indurés et non caséux. Emphysème à l'angle antérieur du lobe supérieur. Un peu d'exsudat dans la cavité pleurale. Poumon droit : induration en foyer de 20 centimètres carrés parfois. Liquide rosé, fibrineux, peu abondant, dans la cavité pleurale. Intestin normal. Epiploon revenu sur lui-même, formant une corde parallèle au côlon transverse. Dans la cavité péritonéale, 15 centimètres cubes de liquide brunâtre, mucilagineux ; réseau de fibrine entre les anses intestinales ; nodules plus ou moins volumineux, translucides, ressemblant à des tubercules, répandus irrégulièrement sur les surfaces péritonéales et dans l'épiploon. A la section du foie et de la rate, nodules semblables.

Ces nodules, examinés au microscope, présentaient en leur milieu une masse caséuse contenant des cellules et des noyaux à formes variées, autour d'un foyer de cellules endothéliales. On ne voit pas de cellules géantes. Endartérite fréquemment observée, surtout dans le poumon. On vit quelques rares cellules géantes dans les nodules péritonéaux.

A l'examen bactériologique on examina des coupes du poumon ; des tubes d'agar glycérimé furentensemencés avec les lésions qui, d'autre part, étaient inoculées à des cobayes.

Dans les coupes du poumon, colorées d'après la méthode de Gabbet, il restait teints en rouge après l'action de l'acide de nombreux éléments ramifiés dont les extrémités représentaient des massues ou des crosses; on ne trouva aucun élément bacillaire.

Ces éléments ramifiés perdaient *assez facilement* le pouvoir de résister à la décoloration par les acides. Ils étaient bien colorés après le Gram, bien colorés également par le Weigert. Ces bactéries furent trouvées aussi dans les autres lésions. Toujours on les rencontra situées entre les cellules et en intime relation avec le processus pathologique.

Sur les milieux nutritifs ensemencés avec du liquide de la cavité pleurale gauche, et des nodules pulmonaires ou péritonéaux, le streptothrix ne put pas être retrouvé, les cultures contenaient au bout de 24 heures de nombreux bacilles appartenant au groupe du bacillus coli communis.

Les cobayes inoculés ne présentaient aucune réaction notable. Ils subirent toutefois un grand amaigrissement. Ils moururent 7 semaines après l'inoculation. A ce moment ils n'offraient aucune lésion tuberculeuse, aucune hypertrophie ganglionnaire.

Il est évident qu'il ne s'agit pas d'une forme ramifiée du bacille de Koch, c'est ce que Flexner conclut, en s'appuyant sur l'absence du pouvoir pathogène pour le cobaye.

Faisons remarquer que dans ce cas, il n'y a pas non plus de discussion possible au point de vue coloration : le bacille ou plutôt le streptothrix est très peu acido-résistant.

Enfin citons des cas moins bien étudiés.

Le bacille d'Aoyama et Miyamoto, rencontré dans une caverne pulmonaire affectant l'aspect d'un streptothrix.

Le bacille de Lichtenstein, non alcool-résistant, trouvé dans l'expectoration sanglante d'une bronchite fibrineuse, dont les crachats n'étaient point pathogènes pour le cobaye.

Le bacille de Birt et Leischman, qui affecte la forme d'un streptothrix, et qui fut rencontré chez un malade présentant à l'autopsie une broncho-pneumonie chronique sans tuberculose pulmonaire.

Le bacille d'Ohlmacher, rencontré dans l'expectoration d'un individu soupçonné tuberculeux, dont les crachats n'étaient pas pathogènes pour le cobaye.

Nous avons nous-même cherché à isoler les bacilles acido-résistants dans les cas de gangrène pulmonaire qu'il nous a été donné de rencontrer au cours de nos années d'internat.

Dans un cas, observé dans le service de M. Widal, à l'examen des crachats, nous avons trouvé des bacilles, d'ailleurs assez rares, qui résistaient à la double action décolorante prolongée de l'acide nitrique au tiers et de l'alcool : ils demeuraient franchement colorés en rouge par la fuchsine.

Nous avons fait des cultures dans l'espoir que nous parviendrions à isoler le germe ; nous n'y avons pas réussi. L'autopsie du malade ne nous montra qu'un énorme foyer de gangrène ayant détruit la presque totalité de tout un lobe pulmonaire, et il n'y avait pas, à l'œil nu, de lésions tuberculeuses. La question serait restée insoluble, si nous n'avions pratiqué, en même temps que la culture, l'inoculation au cobaye. L'animal inoculé sous la peau succomba, avec des lésions de tuberculose généralisée, jusque dans le poumon. Il s'agissait donc de véritable bacille de Koch.

Le fait de ne pouvoir trouver de lésions tuberculeuses à l'autopsie d'un poumon plus ou moins altéré et détruit par le processus gangréneux, ne nous semble pas suffisant pour rejeter le diagnostic de bacille de Koch.

Sans parler des lésions qui peuvent échapper à l'œil le plus exercé, dans des tissus si modifiés, il se peut que dans certains cas les lésions tuberculeuses soient elles-mêmes détruites tout comme le parenchyme normal.

Ainsi dans la gangrène pulmonaire, dans la broncheectasie, dans les autres affections du poumon, on peut rencontrer des bacilles tuberculeux que l'on reconnaîtra toujours par ce fait qu'ils resteront colorés en rouge après l'action de l'alcool absolu.

Seul le bacille de Mme Lydia Rabinowitsch pourrait offrir les mêmes caractères de coloration : l'inoculation au cobaye,

laissant cet animal indemne de tuberculose généralisée, évitera de confondre le bacille de Rabinowitsch avec le bacille de Koch.

Mais dans l'immense majorité des cas ce sont des bacilles accidentellement acido-résistants qu'on rencontre dans ces cas. Ces microbes, grâce à une technique rigoureuse de coloration, ne pourront être pris pour le bacille de Koch, et il ne pourra être question ici d'admettre que dans les crachats certains bacilles de Koch seraient peu acido-résistants ; l'expérience montre que ces bacilles peu acido-résistants et peu alcool-résistants n'ont pas déterminé de lésions tuberculeuses dans le poumon, n'en provoquent pas chez le cobaye : c'est là la meilleure preuve qu'il ne s'agit pas d'un bacille tuberculeux.

Ce fait nous montre bien encore que la double propriété acido et alcool-résistante est l'apanage exclusif du bacille de Koch et des bacilles tuberculoïdes.

L'examen direct des crachats garde donc toute sa valeur, si l'on continue à appliquer non pas une méthode modifiée, mais une méthode bien rigoureuse de décoloration.

§ 5. — **Les bacilles acido-résistants de la bouche, du pus, de l'intestin et des cadavres.**

Nous n'insisterons pas longuement sur les bacilles accidentellement acido-résistants de ce groupe. Ils offrent peu d'intérêt au point de vue du diagnostic.

Dans la bouche, Laabs, Möller, Rabinowitsch, Marzinski ont rencontré des bacilles acido-résistants dans le tar-

tre dentaire, dans les enduits de la langue, dans les cryptes amygdaliennes. Ces bacilles n'ont pas été très étudiés.

Dans le pus, citons le bacille de Cima trouvé dans le pus des otites dans 5 cas sur 8 examinés. Il s'agit d'un bacille gros, trapu, renflé à ses extrémités, qui n'est autre que le bacille du cérumen.

Le bacille de Lubarsch que l'auteur a rencontré dans une arthrite de la hanche.

Le bacille de Dittrich. — Durant la vie, on avait trouvé des bacilles acido-résistants dans les selles de la malade de Dittrich.

A l'autopsie, on constate l'existence d'un kyste de l'ovaire, communiquant avec le rectum. Dans le kyste pullulaient des bacilles fins, élancés, en amas ou isolés. Nettement acido-résistants, ils se montraient aussi alcool-résistants, selon l'auteur, mais dans ce cas les bacilles avaient été décolorés seulement par l'acide nitrique à 10 0/0 et ils présentaient une teinte rose. Ces bacilles, non cultivés, ne furent pas pathogènes pour le cobaye.

Signalons enfin les bacilles rencontrés par **Barannikow, Poscharysky, Herr, Spina, Houston, Karlinski, Matzuhita** : tous ces bacilles pullulent dans tous les organes. Ils ne sont pas alcool-résistants.

Ils n'ont qu'un intérêt relatif, car à l'autopsie, ce n'est pas à l'examen direct, mais à l'inoculation qu'on demande le diagnostic de tuberculose. Nous retiendrons seulement le bacille de Lubarsch, trouvé par cet auteur dans les plaques athéromateuses des artères.

Dans les matières fécales, on a signalé deux fois des acido-résistants. L'un est cité par Jousset, qui l'a trouvé deux

fois dans les matières d'un typhique. La culture sur pomme de terre et l'inoculation au cobaye lui ont montré qu'il ne s'agissait pas du bacille de Koch.

Rappelons que l'autre cas, signalé par Mironescu, a trait à un bacille tuberculoïde.

CHAPITRE VIII

ÉTUDE DES CAUSES DE LA PROPRIÉTÉ ACIDO-RÉSISTANTE

La propriété acido-résistante est commune à tous les bacilles que nous venons d'étudier. Elle existe chez tous à un degré plus ou moins intense.

Mais sa signification, sa valeur sont très différentes chez les bacilles tuberculoïdes et chez les bacilles acido-résistants accidentels.

Chez les premiers, la propriété acido-résistante est intense, vis-à-vis des acides minéraux ; elle se double d'une autre propriété, l'alcool-résistance, elle aussi très intense.

Le caractère très particulier de cette propriété acido-résistante et alcool-résistante est de se retrouver non seulement pour le bacille qui se développe dans les lésions morbides, mais encore dans les cultures sur les milieux artificiels, et dans toutes les transformations du microbe

Chez les seconds, la propriété acido-résistante est légère, vis-à-vis surtout des acides minéraux ; elle ne se double pas de la propriété alcool-résistante, qui fait défaut pour eux.

A ce premier caractère distinctif s'en ajoute un second ; la propriété acido-résistante déjà légère disparaît complètement sur les milieux artificiels *ordinaires* sur lesquels on les cultive. Elle est, pour eux, transitoire et accidentelle.

La propriété acido-résistante existe donc pour les premiers — le bacille tuberculeux, les tuberculoïdes — dans toutes les circonstances où ils se trouvent, ce qui conduit à penser

qu'elle est due à une fonction du bacille lui-même, qui joue dans ce fait un rôle actif.

Pour les seconds, elle n'existe que dans certaines circonstances, — non pas dans toutes celles où ils se trouvent, — ce qui fait supposer qu'ils la doivent pour une part aux conditions dans lesquelles ils se trouvent.

La nature de l'acido-résistance du bacille tuberculeux et des bacilles tuberculoïdes leur est donc inhérente, très particulière, et il est fort intéressant d'en rechercher les causes.

La première hypothèse qui fut émise à ce sujet est celle d'Ehrlich : le corps du bacille de Koch serait *perméable* aux bases, *imperméable* aux acides. Nous avons vu comment Ziehl, en particulier, a fait justice de cette hypothèse.

On a ensuite pensé que le bacille était entouré d'une couche de matière grasse, ou de matière cellulosique qui l'empêchait de se colorer comme de se décolorer, et communément, sans vérifications précises, on a admis comme de notion courante que la propriété acido-résistante du bacille tuberculeux était due aux matières grasses qu'il renferme.

Jacobson a porté le premier coup à cette hypothèse en faisant remarquer que les graisses neutres ne sont point acido-résistantes.

Camus et Pagniez ont alors attribué aux acides gras libres contenus dans le bacille cette propriété, que ces acides possèdent *in vitro*.

Enfin, Bulloch et Mac Leod, Dorset et Emery, en se fondant sur l'analyse chimique, isolent des corps bacillaires un alcool supérieur voisin de la cholestérine, qui est acido-résistant, et à qui ils attribuent le principal rôle dans la réaction du bacille de Koch.

Tout récemment, Auclair et Paris, reprenant cette question, concluent que tous les extraits étherés, chloroformés, alcooliques du bacille de Koch sont acido-résistants, et que la substance albuminoïde et la trame elle-même de ce bacille, composée de cellulose, possèdent également cette propriété.

..

Le bacille tuberculeux ayant une composition chimique très différente de celle des autres bactéries, il est légitime de rapporter son acido-résistance à cette composition spéciale.

D'après les travaux d'Hammerschlag, de Weyl, de Straus, de Kresling, de Bulloch et Mac Leod, de Dorset et Emery, d'Auclair et Paris, il semble constitué :

1° Par des substances grasses qui constituent environ 27 0/0 de son poids d'après Hammerschlag, 39 0/0 d'après Kresling, 33, 8 0/0 d'après Auclair.

Ces substances grasses sont des graisses neutres, telles que la palmitine, des cires, et surtout des acides gras. Les acides gras libres, d'après Kresling, entrent pour 23, 08 0/0 dans la totalité des substances grasses. Camus et Pagniez avec le concours de Nicloux trouvent 50, 3 0/0 d'acides gras libres dans un échantillon d'éthéro-bacilline d'Auclair, 20, 8 0/0 dans un autre échantillon, 22, 4 0/0 dans un échantillon de chloroformo-bacilline.

Il existe encore, parmi ces graisses, une graisse phosphorée, voisine de la lécithine ;

2° Un alcool supérieur voisin de la cholestérine ;

3° Des substances albuminoïdes, des substances alcaloïdiques, et une matière colorante ;

1° Une trame, regardée comme une cellulose par les uns, comme une chitine par les autres.

Lorsque, pour isoler ces corps, on traite le bacille soit par l'éther, le chloroforme, la benzine, etc., le dissolvant entraîne à la fois plusieurs substances : notamment les graisses, les cires, les acides gras, les cholestérines et les lécithines. Ces extraits globaux, desséchés, comme ceux d'Auclair (éthéro-bacilline, chloroformo-bacilline) sont acido-résistants : mais ce sont là des substances très complexes.

Toutes les substances grasses qui entrent dans la composition du bacille de Koch, ne sont pas en elles-mêmes acido-résistantes : les graisses neutres, d'après les travaux de Jacobson, de Ciaccio, de Camus et Pagniez, ne sont pas acido-résistantes (1), que ces graisses neutres soient extraites à l'état de pureté de l'éthéro-bacilline (Pagniez, Camus, Nieloux), soit qu'elles viennent du commerce. Les acides gras extraits de la même façon du corps du bacille de Koch sont au contraire nettement acido-résistants, comme l'ont bien montré Camus, Pagniez et Nieloux. L'acido-résistance n'est d'ailleurs pas spéciale aux acides gras du bacille tuberculeux. Un certain nombre d'acides gras du commerce, l'acide stéarique, l'acide palmitique, sont d'ailleurs acido-résistants (2). Il suffit, pour le démontrer, comme l'ont fait Camus et Pagniez, de déposer au centre d'un petit carré de papier une gouttelette d'acide gras, puis de trai-

(1) Le beurre vulgaire du commerce, ainsi que nous nous en sommes assuré bien des fois, n'est pas acido-résistant.

(2) CAMUS et PAGNIEZ ont montré que tandis que les graisses neutres telles que l'huile de coton, de lin, d'arachide, l'axonge ne sont pas acido-résistantes, elles le deviennent lorsqu'elles rancissent, ce qui est en faveur du rôle des acides gras puisque le rancissement est précisément le fait de la présence de ces acides gras.

ter la tache ainsi formée par la méthode de Ziehl, la partie centrale de la tache est acido-résistante. Rappelons à ce propos que l'acide palmitique fait partie des acides gras qui entrent dans la composition du bacille.

Mais si les acides gras isolés du bacille tuberculeux sont acido-résistants, ils ne se comportent pas, comme le fait remarquer Ciaccio, à tous points de vue comme le bacille de Koch; ils sont, en effet, *rapidement* colorables par les couleurs aqueuses d'aniline à froid, sans mordant, ce qui n'est pas le cas du bacille de Koch.

Si donc le bacille de Koch doit sa propriété acido-résistante à la présence d'acides gras dans son corps protoplasmique comme le veulent Camus et Pagniez, ce n'est pas aux acides gras qu'il est redevable de cette autre propriété qu'il a de ne pas prendre rapidement, ou de prendre très lentement les couleurs aqueuses d'aniline.

D'autre part les corps gras, d'une façon générale, se colorent par le Sudan III. Dorset a proposé, se fondant sur cette notion, de colorer le bacille de Koch par le Sudan. Après Cowie, nous avons constaté qu'il est impossible de colorer les bacilles de Koch par ce procédé. Alors qu'une goutte de beurre figé très épaisse, se laisse intensément colorer en cinq minutes par le Sudan III, les bacilles de Koch, soit dans les crachats, soit dans les cultures, restent absolument incolores. Nous avons prolongé pendant 24 heures l'action de ce colorant sur les bacilles, sans pouvoir réussir à les colorer (1).

(1) Nous avons traité par l'acide osmique en solution à 2 0/0 pendant 24 heures des bacilles de Koch venant de culture. Au bout de ce laps de temps on aperçoit, au centre du bacille, quelques tout petits points noirs. Sur des coupes de tissus tuberculeux, traités pendant 24 heures par le

La cholestérine extraite du bacille de Koch serait également acido-résistante, d'après les recherches de Bulloch et MacLeod, de Dorset et Emery ; nous avons cherché si la cholestérine du commerce était aussi acido-résistante ; ayant imprégné des fils de coton avec de la cholestérine dissoute dans l'alcool bouillant et les ayant colorés par la méthode de Ziehl, nous avons vu qu'ils n'étaient pas acido-résistants, et surtout qu'ils n'étaient point alcoolo-résistants.

La cholestérine n'entre d'ailleurs que pour une si petite part dans la composition du bacille qu'elle ne doit pas jouer un rôle important dans ses réactions histochimiques.

Les substances albuminoïdes, la trame cellulosique, d'après Auclair et Paris, sont également acido-résistantes.

Ainsi donc toutes les substances principales qui entrent dans la constitution du bacille, sauf les graisses neutres, seraient acido-résistantes. Faisons cependant remarquer que, dans tous les travaux que nous venons de rappeler, les auteurs se sont en général bornés à noter l'acido-résistance, sans spécifier le degré de cette acido-résistance, et surtout sans dire s'ils ont vérifié l'alcoolo-résistance.

Auclair et Paris nous ont dit l'avoir vérifiée. Cette recherche de l'alcoolo-résistance n'est pas sans intérêt, car nous avons vu que des fils imprégnés de cholestérine étaient légèrement acido-résistants, mais qu'ils se décoloraient dès qu'on les traitait par l'alcool. Ils se comportaient donc à la manière des bacilles du smegma et non à la manière du bacille de Koch.

Flemming, il est impossible de voir des bacilles colorés en noir ; mais on les voit très facilement après avoir fait une réaction de Ziehl, car le Fleming, comme l'a déjà montré Josué, ne gêne nullement la réaction d'Ehrlich sur le bacille.

On a cherché encore à se rendre compte de la nature de la propriété acido-résistante du bacille de Koch, en essayant de dégraisser les bacilles et en vérifiant ensuite comment se comportaient les corps bacillaires. L'éther, le chloroforme, l'alcool dissolvent bien une partie des corps gras qui entrent dans la composition du bacille de Koch, de même le xylol (Borrel), l'éther de pétrole (Vallée, Cantacuzène). Mais d'une part, ils ne dissolvent pas que des corps gras, et d'autre part Auclair et Paris dans un travail récent ont montré que pour obtenir un dégraissage complet, il est nécessaire de faire subir aux corps bacillaires l'action successive de l'alcool, de l'éther, du chloroforme.

Les recherches de Vallée, Cantacuzène, qui traitaient les bacilles par l'éther de pétrole, semblèrent démontrer que les corps bacillaires dégraissés avaient perdu la propriété acido-résistante.

Ciaccio, par contre, après avoir plongé des bacilles fixés sur lamelles dans l'alcool-éther (une heure), dans le xylol (8 heures), dans l'alcool absolu (une demi-heure), voit que les bacilles sont encore acido-résistants. Camus et Pagniez disent que, dans ces expériences, le dégraissage n'a peut-être pas été complet et opposent aux résultats de Ciaccio ceux de Cantacuzène (1). Nous-même avons traité pendant 15 jours, à froid,

(1) Ehrlich recommande de ne jamais traiter les préparations colorées de bacilles de Koch par le chloroforme, l'éther, les dissolvants des corps gras, et par l'essence de girofle, qui serait un décolorant énergique. Nous avons acte des préparations de crachats bacillifères préalablement colorés par la solution anilinée d'Ehrlich, et décolorés pendant 5 minutes avec l'acide nitrique, d'une part par le chloroforme, d'autre part par l'essence de girofle pendant 5 minutes. Les bacilles restent parfaitement colorés dans ces conditions.

Des coupes histologiques de tissus tuberculeux renfermant des bacilles

des bacilles de Koch par l'essence de térébenthine, qui est un dissolvant des corps gras, mais ne dissout pas la cholestérine, et avons vu que dans ces conditions les bacilles ainsi traités restent acido et alcool-résistants.

Auclair et Paris reprennent ces recherches et font agir sur le bacille plusieurs dissolvants permettant de réaliser le dégraissage total du bacille de Koch (alcool, éther, chloroforme) ; ils s'assurent qu'après action de ces substances, les bacilles sont parfaitement dégraissés et voient que cependant les corps bacillaires sont encore acido-résistants.

Weyl, enfin, traite le bacille par la lessive de soude à chaud, et détruit et écarte ainsi les graisses, les acides gras, les matières albuminoïdes, même la cholestérine, et le résidu cependant reste acido-résistant.

Il semblerait donc, et c'est la conclusion à laquelle aboutissent Auclair et Paris dans leur travail, que toutes les substances, les graisses neutres exceptées, seront acido-résistantes. Pourtant ces substances présentent d'autres affinités tinctoriales que le bacille de Koch ne possède pas, et qu'il est par conséquent impossible de mettre en évidence dans ces substances contenues à l'intérieur du bacille (réaction du Sudan, réaction des colorants aqueux). L'acido-résistance apparaît donc comme liée autant à la constitution physique qu'à la composition chimique du bacille de Koch (1).

préalablement fixés au Flemming, passés dans la série des alcools et dans le xylol, ont été traités selon la coutume par le xylol, l'alcool, etc. Les bacilles sont parfaitement acido-résistants. Dans une coupe de foie présentant de la dégénérescence graisseuse, notamment, alors que la graisse avait abandonné complètement les cellules, les bacilles restent parfaitement acido-résistants.

(1) Rappelons que les différents éléments qui entrent dans la composi-

On peut encore essayer d'envisager d'une autre façon le problème de la nature de l'acido-résistance du bacille de Koch et se demander dans quelles conditions des bacilles non acido-résistants le deviennent cependant accidentellement.

Il est un premier fait, c'est que les bacilles accidentellement acido-résistants, ceux qu'on peut appeler les bacilles pseudo-acido-résistants, ont été le plus souvent rencontrés à l'état physiologique dans des milieux gras, dans le smegma, dans le cérumen, dans la matière sébacée, à l'état pathologique dans les crachats de gangrène pulmonaire, de dilatation bronchique qui sont, comme on sait, très riches en acides gras.

On peut se demander si, dans ces conditions, il se fait une sorte d'enrobage par les corps gras qui donnent aux bacilles la propriété acido-résistante ; il est de fait que, dans le smegma, tous les éléments ont, à un certain degré, l'acido-résistance, même les cellules épidermiques, mais il n'en reste pas moins vrai que, si on fait agir les agents décolorants d'une façon plus énergique, les cellules et la plupart des microbes se décolorent, tandis que, seuls, quelques-uns restent acido-résistants, mais non alcoolo-résistants. Il semble que, dans ces milieux spéciaux, certaines espèces microbiennes, telles que le bacille pseudo-diphtérique, aient une tendance particulière à se développer et que ces bacilles, par suite peut-être d'une composition spéciale de leur protoplasma, au contact

tion du bacille de Koch ne s'y trouvent pas dans le même état que s'ils étaient isolés : telles les graisses neutres, colorables par le soudan, tandis que le bacille ne l'est point ; tels les acides gras, colorables par les colorants aqueux, tandis que le bacille n'est point colorable de cette façon. Rappelons aussi que par l'imprégnation prolongée pendant 24 heures par l'acide osmique, nous avons pu voir certaines graisses colorées en noir sous forme de grains très fins situés dans l'axe du bacille.

des corps gras, acquièrent un certain degré d'acido-résistance.

La présence des corps gras n'est, d'ailleurs, pas toujours nécessaire pour l'acquisition par certains bacilles de la propriété acido-résistante et ils peuvent l'acquérir aussi, comme nous l'avons vu, quand ils se développent dans les sérosités et dans le sang.

Le rôle joué par les substances grasses et les sérosités dans le développement accidentel de l'acido-résistance est encore démontré par ce qui se passe quand on cultive les microbes sur des milieux additionnés de substances grasses.

Bienstock, puis Gottstein ont cultivé le bacillus subtilis, le coli-bacille, le microbe du charbon dans des milieux additionnés de beurre ou de lanoline ; ils ont vu que, dans ces conditions, ces microbes acquéraient la propriété acido-résistante. Nous avons pu vérifier ces faits pour le bacillus subtilis, la bactériidie et le bacille diphtérique ; quelques bacilles du foin ou du charbon deviennent légèrement acido-résistants ; pour le bacille de Lœffler le nombre des éléments est plus considérable (1).

On peut encore conférer un certain degré d'acido-résistance à des bacilles ordinaires en les faisant végéter sur des milieux ordinaires, à condition d'ensemencer en même temps du bacille de Koch, comme si ce dernier qui fabrique pour lui-même et de lui-même, aux dépens du milieu, les substances qui lui donnent sa propriété acido-résistante, en cédait un peu au bacille commensal qui végète à côté de lui. Gibier, le premier, a réalisé cette expérience en ensemençant des bacilles du charbon sur des cultures de bacilles de Koch.

(1) Rappelons qu'il s'agit d'acido-résistance légère et qu'aucun bacille n'est jamais devenu alcool-résistant.

Nous-même avons cultivé le bacille diphtérique, le bacillus subtilis, le bacille du charbon dans une macération de bacilles de Koch dans l'eau stérilisée. Dans ces conditions, nous avons vu le bacillus subtilis et le charbon acquérir la propriété acido-résistante, mais le bacille diphtérique ne l'a pas acquise. Abandonnant un jour, dans le laboratoire, une macération de bacilles de Koch, nous avons vu s'y développer spontanément un voile formé d'un streptothrix à longs filaments qui était acido-résistant.

Nous avons cherché, d'autre part, comment se comportaient les bacilles ordinaires ensemencés dans les liquides séro-fibreux. Le bacille diphtérique, cultivé dans ces conditions, peut devenir acido-résistant, le bacillus subtilis n'acquiert pas la propriété, à moins qu'au préalable il n'ait déjà été cultivé sur du bouillon au beurre ; repiqué de bouillon au beurre sur du bouillon ordinaire il n'est plus acido-résistant.

Nous nous sommes demandé si, dans les milieux organiques qui ne contiennent pas de matières grasses, il ne fallait pas faire jouer un rôle à la cholestérine dont la présence est constante dans ces milieux.

*
* *

La propriété acido-résistante n'est pas l'apanage exclusif du bacille tuberculeux. Elle appartient encore aux spores microbiennes et à certaines granulations cellulaires. Les spores microbiennes ne se colorent pas par les couleurs aqueuses d'aniline, mais se colorent à chaud par le liquide de Ziehl et résistent alors à la décoloration par l'acide sulfurique au 1/4. Elles ont donc la double propriété du bacille de Koch : l'imper-

méabilité relative aux solutions aqueuses de couleurs d'aniline, l'acido-résistance.

La chromatine des noyaux en caryokinèse est elle aussi nettement acido-résistante.

Il serait intéressant de voir si la composition chimique de ces éléments ne se rapproche pas de celle du bacille de Koch ; pour la spore on a prétendu que des matières grasses existaient dans le protoplasma.

Il est malaisé de dégager de tant de faits disparates la raison intime de la double propriété acido et alcool-résistante du bacille tuberculeux.

Cependant, ces expériences viennent confirmer la nécessité de distinguer nettement le bacille tuberculeux et les bacilles tuberculoïdes des pseudo-bacilles acido-résistants.

La propriété acido-résistante du bacille de Koch et des bacilles tuberculoïdes qu'ils partagent avec les spores microbiennes, avec certaines granulations cellulaires, avec la chromatine des noyaux en caryokinèse -- et dont l'explication dans ces cas n'est pas plus facile -- est bien différente de la faible acido-résistance des bacilles pseudo acido-résistants.

Expérimentalement on ne parvient pas à conférer à des microbes vulgaires la véritable propriété acido et alcool-résistante du bacille de Koch.

Celle-ci reste presque un fief pour lui et les tuberculoïdes, mais sa cause demeure encore mystérieuse.

CONCLUSIONS

Le terme acido-résistant, d'abord employé pour désigner une réaction colorante histochimique commune au bacille tuberculeux et à quelques bacilles trouvés dans le beurre, le lait et sur les céréales, a été étendu ensuite à tout microbe qui présentait après coloration par le Ziehl un certain degré de résistance à la décoloration par les acides.

Ainsi est né ce groupe disparate des bacilles acido-résistants.

Dans ce groupe il y a lieu de distinguer deux catégories de microbes :

1° Des bacilles essentiellement acido-résistants, qui ont pour caractère d'être énergiquement et héréditairement acido-résistants, et de plus alcoolo-résistants. Ces propriétés sont pour eux un caractère d'espèce ;

2° Des pseudo-bacilles acido-résistants, pour qui cette propriété n'est qu'un caractère d'emprunt, qu'ils acquièrent par le séjour dans certains milieux, mais qu'ils perdent lorsqu'ils sont transplantés hors de ces milieux. Ces bacilles sont d'ailleurs faiblement acido-résistants et ne sont pas alcoolo-résistants.

Le groupe des bacilles essentiellement acido-résistants est constitué :

1° Par le bacille tuberculeux (humain, bovin, aviaire, pisciaire) ;

2° Par les bacilles du lait, du beurre, des céréales, etc. qui

constituent le groupe des bacilles tuberculoïdes, dont la parenté avec le bacille de Koch est indéniable.

Le groupe des pseudo-bacilles acido-résistants est constitué par des bacilles qui ont été trouvés dans le smegma, l'urine, les sérosités fibrineuses, le sang, les produits de l'expectoration, la sécrétion sébacée de la peau, le cérumen, certains pus, dans les organes des cadavres.

Tandis qu'au point de vue pratique, en clinique humaine, on n'a jamais à faire le diagnostic entre le bacille de Koch et les bacilles tuberculoïdes, au contraire souvent se pose le problème du diagnostic du bacille de Koch vrai et des bacilles accidentellement acido-résistants.

L'étude de la manière dont se comporte le bacille de Koch coloré par le Ziehl à chaud vis-à-vis des acides et de l'alcool nous montre que le bacille résiste à des décolorations par les acides forts dilués au tiers pendant au moins deux minutes, tandis qu'au contraire, les bacilles accidentellement acido-résistants sont décolorés par les acides forts agissant plus de deux minutes, au plus.

Le bacille de Koch résiste à la décoloration par l'alcool pendant une heure au moins.

Les pseudo-bacilles acido-résistants se décolorent en quelques minutes au plus par l'alcool.

Le retour à la technique rigoureuse de Ziehl-Neelsen, telle qu'elle a été primitivement employée, s'impose :

Coloration au Ziehl à chaud.	10 minutes
Décoloration à l' AzH^3	2 —
Lavage à l'eau.	
Décoloration à l'alcool	3 à 5 minutes
Recoloration ou non au bleu de Unna.	
Décoloration à l'alcool.	

Elle suffira pour éviter toute erreur, le bacille tuberculeux et les bacilles tuberculoïdes présentant seuls cette réaction.

La cause de l'acido-résistance du bacille de Koch a été attribuée à la présence dans son protoplasma de matières grasses.

En réalité, toutes les substances qui entrent dans la composition du bacille de Koch, les graisses neutres exceptées, paraissent jouir de cette propriété ; mais chacune de ces substances isolée chimiquement possède des réactions qui diffèrent des réactions colorantes du bacille de Koch, et c'est en somme leur agencement spécial dans le corps du bacille tuberculeux qui confère à celui-ci sa propriété caractéristique.

La propriété acido-résistante n'est due en particulier ni à la graisse, ni aux acides gras, ni à la cholestérine qui entrent dans la composition du bacille ; elle paraît plutôt être due à sa constitution physique, mais son essence nous échappe encore.

Vu :

Le Président de la Thèse,
GILBERT.

Vu :

Le Doyen,
LANDOUZY

Vu et permis d'imprimer :

Le Vice-Recteur de l'Académie de Paris,
L. LIARD.

INDEX BIBLIOGRAPHIQUE

- Abenhauser.** — *Einige Bemerkungen über das Vorkommen von Tuberkelbacillen in Marburger Butter u. Margarine.* Inaug. Dissertation. Marburg, 1900.
- Alvarez et Tavel.** — Recherches sur le bacille de Lustgarten. *Arch. de physiol. norm. et pathol.*, 1885, n° 7.
- Aoyama et Miyamoto.** — *Mitteilungen der med. Fakultät der kaisertl. Japan. Universität zu Tokio*, Bd. 4, n° 7.
- Aronsohn (E.).** — Beziehungen zwischen Tuberkulose u. Krebs. *Deutsche med. Wochenschrift*, 1902, n° 47, S. 842.
- Auclair et Paris.** — Constitution chimique du bacille de Koch et de sa substance unissante ; ses rapports avec l'acido-résistance. *Arch. de méd. expérim.*, n° 2, mars 1902, p. XIX.
- Anonyme.** — Sur l'existence des bacilles pseudo-tuberculeux dans les crachats de l'homme. *Rev. franç. de méd. et de chir.*, n° 36, 1903, lundi 27 juillet 1903, p. 857.
- Babes et Cantacuzène.** — *Annales de l'Institut Pasteur*, nov. 1905, p. 699.
- Barannikow.** — Zur Frage der sogenannten säurefesten Microben. VIII. Kongress russischer Ärzte. Ref. *Zentralbl. für Bakt.* Bd. 34, 1902, n° 14, S. 426.
- Zur Kenntniss der säurefesten Microben. Was für ein Microbium ist der sogenannte Smegmabacillus ? Einige Bemerkungen zum Artikel von Prof. Fraenkel : « Zur Kenntniss der Smegma bacillen. » *Zentralbl. f. Bakt.*, I. Abt. Orig., Bd 34, 1902, n° 7, S. 282-287.
- Baumgarten.** — Beitrag zur Darstellungsmethode der Tuberkelbacillen. *Zeitschr. f. Wissensch. Microscopie*, 1884, B. I, S. 51.
- Beck.** — Ueber die diagnostische Bedeutung der Koch'schen Tuberculin. *Deuts. med. Woch.*, 1899, n° 9.
- Experimentelle Beiträge zur Untersuchung über die Marktmilch. *Deut. Vierteljahrsschr. f. Gesundheitspflege*, 1900, fasc. 3, p. 430.
- Beck u. Rabinowitsch.** — Ueber den Wert der Courmont'schen Se

- rumreaction f. die Fruhdiagnose der Tuberculose. *Deuts. med. Woch.*, 1900, n° 25.
- Béclère.** — Nouveaux résultats obtenus par l'inoscopie. *Soc. méd. hôp.*, 14 janvier 1903.
- Bellei et Collina.** — La présence du bacille de Koch dans les matières fécales et dans les urines des tuberculeux. *Bollett. delle sc. med. di Bologna*, août 1904; *Gazette des hôpitaux*, 24 nov. 1904.
- Beurmann (de) et Gougerot.** — Contribution à l'étude bactériologique de la lèpre. La léproline de Rost. *C. R. Soc. méd. hôp.*, 12 déc. 1907, p. 1397, n° 35.
- Traitement de la lèpre par la léproline. *C. R. Soc. méd. hôp.*, p. 1411, 12 déc. 1907.
- Bergeron.** — *Recherches de bacilles tuberculeux dans le sang.* Thèse Paris, 1907.
- Bezançon et Griffon.** — Culture directe du bacille tuberculeux par l'ensemencement direct du liquide céphalo-rachidien sur le sang gélosé glycérimé. *C. R. Soc. Biol.*, 24 juin 1899.
- Culture du bacille tuberculeux sur la pomme de terre emprisonnée dans la gélose glycérimée et sur le sang gélosé. *C. R. Soc. Biol.*, 4 fév. 1899.
- Culture du bacille tuberculeux sur le jaune d'œuf gélosé. *C. R. Soc. Biol.*, 3 mai 1903, P. IV, p. 603.
- Bezançon, Griffon et Philibert.** — Recherche du bacille tuberculeux dans le sang par homogénéisation du caillot. *C. R. Soc. Biol.*, T. LV, 10 janv. 1903, p. 33-37.
- Causes d'erreur dans le diagnostic du bacille tuberculeux, recherché dans le caillot par l'examen microscopique, *C. R. Soc. Biol.*, T. LV, 7 fév. 1903, p. 203-204.
- Bezançon et Philibert.** — Recherches expérimentales sur l'inoculation simultanée du bacille tuberculeux et du beurre dans la poitrine des cobayes. *Revue de la tuberculose*, août 1905.
- Bacilles héréditairement acido-résistants et bacilles accidentellement acido-résistants. *C. R. Congrès de la tuberculose*, Paris, 1905.
- Etude comparée de l'acido-résistance du bacille tuberculeux et des bacilles acido-résistants. *Bull. médical*, n° 96, 11 déc. 1907, et *Bull. de la Soc. d'études sc. sur la tuberculose*, déc. 1907, p. 203.
- Sur la nature de l'acido-résistance du bacille tuberculeux. *C. R. de la Soc. d'études sc. sur la tuberculose*, déc. 1907, p. 214.
- Biedert.** — *Berlin. klin. Wochens.*, 1886, n°s 42 et 43, et 1891, n° 2, p. 52.
- Binot.** — Sur un bacille para-tuberculeux isolé du beurre. *Arch. de parasitologie*, 10 mai 1903, p. 306.

- Bienstock.** — Zur Frage der sogenannten Syphilis Bacillen u. der Tuberkelbacillen farbung. *Fortsch. d. Med.*, 1886, p. 193.
- Birt u. Leischmann,** cité par PERTIG. — *Erge d. allg. Path. u. anat. Pathol.*, 8^e ann., 2^e part.
- Borrel.** — Tuberculose pulmonaire expérimentale. *Annales de l'Institut Pasteur*, 1893, p. 602.
- Bacilles tuberculeux et para-tuberculeux. *Bull. de l'Institut Pasteur*, 1904, n^{os} 10-11 et 12.
- Bonhoff.** — Ueber das Vorkommen von Tuberkelbacillen in der Marburger Butter und Milch. *Hyg. Rundschau*, 1900, p. 123.
- Boutin.** — *Les variations morphologiques du microbe de la tuberculose*, Thèse de Paris, 1906, Asselin et Houzeau.
- Bouveault.** — *Etudes chimiques sur le bacille de la tuberculose*. Thèse de Paris, 1892.
- Bronstein,** cité par PERTIG. — *Ergeb. der allg. Path.* etc.
- Brieger et Neufeld.** — Ueber die diagnostische u. therapeutische Bedeutung der Tuberkelbacillen und anderen Bakterien im Auswurf. *Berlin. klin. Woch.*, 1900, n^o 37, p. 272.
- Brown.** — *Journ. of cut. and genito-urin. diseases*, octobre 1898.
- Bryson (J. P.).** — A possible aid to discovery of the tubercle Bacille in urine. *Journ. of cut. and genito-urin. diseases*, 1902, n^o 9, p. 391-399.
- Bulloch, Adanii, Weewey, Marmoreck, Kossel.** — The morphologisch and physiological variatures of the bacillus tub. and its relations to other streptothrix. *The Lancet*, juill. 1901, vol. 64, XI, p. 242.
- Bulloch and MacLeod.** — The chemical constitution of the tubercle bacillus. *Journ. of Hyg.*, vol. IV, 27 fév. 1904.
- Bunge et Trautenroth.** — Smegma et Tuberkelbacillen. *Fortsch. d. Med.*, vol. XIV, 1896, n^{os} 23 et 24, p. 829 et 889.
- Bureau.** — *Des causes d'erreur dues aux bacilles du smegma etc.* Thèse Paris, 1906. Bonvalot Jouve.
- Camus et Pagniez.** — Acide gras et bacille tuberculeux. *Presse méd.*, 30 janv. 1907, n^o 9, p. 65.
- Propriétés acido-résistantes des acides gras. *C. R. Soc. Biol.*, 23 déc. 1905.
- Cao (G.).** — Ueber den Gehalt des Smegma der Bakterien, die bakteriziden Eigenschaften der Vorhaut Schleimhaut. *Giorn. ital. delle malatt. ven. e delle pelle*, vol. XXXIV, 1899, n^o 4, p. 10.
- Casper (L.).** — Die Tuberkulose der Harnblase und ihre Behandlung. *Deut. Klinik am Eingange des lahrhundert*, 1902, X Bd. I Abt. 52 Lieferung. S. 99-124.

- Zur Pathologie u. Therapie der Blasentuberkulose. *Deut. med. Woch.*, 1900, nos 41-42, S. 661-663, 673-677.
- Cazottes (Ivan).** — *Etude sur la coloration et décoloration des bacilles acido-résistants*. Thèse Lyon, 1904.
- Chavigny.** — Gangrène subaiguë provoquée par un bacille spécial. *Ann. Institut Pasteur*, 1897, p. 860.
- Ciaccio.** — Sur l'acido-résistance du bacille de Koch. *C. R. Soc. Biol.*, t. LX, 24 mai 1904, p. 585.
- Cima** cité par PERTIG. — *Ergeb Path. d. allg. etc.*
- Cochinal.** — L'inoscopie. *Ann. méd.-chir. du Centre*, 15 mai 1903.
- Coggi.** — Sulla Presenza di Bacilli tubercolare nel beuro di mercate di Milano. *Giornale del reale Sozietà italiana d'Igieni*, juillet 1899, n° 7, p. 289.
- Courmont et Potet.** — Les bacilles acido-résistants du beurre, du lait et de la nature comparés au bacille de Koch. *Arch. de méd. exp. et d'anat. path.*, janvier 1903, p. 83.
- Courmont.** — Les bacilles acido-résistants et le diagnostic de la tuberculose. *Lyon médical*, 1904, n° 4, p. 765.
- Courmont et Descos.** — Lésions tuberculiformes créées chez le chien par le bacille du beurre de Binot. *Soc. Biol.*, décembre 1902.
- Cowie.** — Bacilles résistant aux acides sur le pis des vaches. *Journ. of experim. Med.*, 1900, vol. V, p. 205.
- A preliminary report on acido-resisting bacilli with special reference to their occurrence in the lower animals. *Journ. of experim. Med.*, octobre 1900, p. 205.
- The sudan III stain for the tubercle bacillus. *New-York med. Journal*, 1899, n° 1, p. 46-47.
- Crouzon et Villaret.** — Les bacilles pseudo-tuberculeux. *Revue de la tuberculose*, t. X, n° 2, juillet 1903.
- Czaplewski.** — Zum Nachweis der Tuberkelbacillen im Sputum. *Centralb. f. Bakt.*, 1^{re} partie, nov. 1890, nos 22 et 23, p. 685-717.
- Zur Kenntniss der Smegma-bacillen. *Münch. med. Woch.*, 1897, n° 43.
- Dahms.** — The Smegma-Bacillus. *Journ. of the American med. Assoc.*, 1900, avril 21 et 28.
- Dean (G.).** — A disease of the rat caused by an acido fast Bacillus. *Centralb. f. Bakt.*, L. Orig. LXXXIV, n° 3, 22 juillet 1903, p. 222-224.
- Dittrich.** — Säurefesten Bakterien in einer vereiterten Ovarialkyste. *Berl. klin. Woch.*, 1899, t. XXXVI, n° 9, p. 189.
- Dorset et Emery.** — Constitution chimique du bacille tuberculeux. *Bureau of animal Industry Annal Report for 1904 et Bull. Inst. Pasteur*, t. III, p. 277.

- Doutrelepont et Schutz.** — Ueber Bacillen bei Syphilis *Deut. med. Woch.*, n° 10, 1885, p. 320.
- Ehrlich.** — Beiträge zur Theorie der Bacillenfärbung. *Charité Annalen*, 1886, u. *Deut. med. Woch.*, 1882.
- Flexner.** — Pseudo-tuberculose hominis streptothrica. *Journ. of exp. Med.*, III, 1898 et *Bull. of the Johns Hopkings hosp.*, Baltimore, juin 1897, n° 75, p. 128.
- Finkelstein.** — Der Tuberkelbacillus u. die säurefesten Bacillen. *Wojenno medizinski Jhurnal*, apul 1902.
- Falli.** — Bacilli resistenti agli acidi gangrene. *Riforma med.*, 1901, 27 Agosto.
- Forsell.** — Eine verbesserte Methode zum Nachweiss von Tuberkelbacillus im Harn. *Deut. Zeitsch. f. Chir.*, L. XVI, 3-4.
- Fournier et Beaufumé.** — Recherches du bacille de Koch dans l'urine. *C. R. Soc. Biol.*, 1902, n° 31, p. 369-379.
- Foulerton et Hillier.** — The condition of urine in tuberculose infection. *British med. Association*, 2, VIII, 1901 et *British med. Journ.*, 1901, vol. II, p. 774.
- Fraenkel.** — Ueber die Färbung des Koch'schen Bacillus. *Berl. klin. Woch.*, 1884, p. 193 et 214.
 — Einige Bemerkungen über das Vorkommen von Smegma Bacillen im Sputum. *Berl. klin. Woch.*, oct. 1898, n° 40, p. 880.
 — Zur Kenntniss der Smegma Bacillen. *Zentralbl. f. Bakt.*, Bd. 29, 1901, n° 1, p. 1-5.
 — *Deutsche medicin. Wochenschrift*, 1900, p. 130.
- Gabbet.** — Rapid stammy of the tubercle bacillus. *The Lancet*, 9 avril 1887, p. 787.
- Gabritschewski.** — L'état actuel de la question de la coloration des bacilles tuberculeux. *Arch. russes de Path., de Méd. clinique et de Bactériologie*, oct. 1900, p. 369.
- Galbrun (Eugène).** — *Etude sur le bacille du beurre*. Thèse de docteurat en pharm. Maloine, Paris.
- Galtier.** — Dangers de l'utilisation des produits tels que le petit lait et le fromage, etc. *C. R. de l'Acad. des Sc.*, 1887, t. CIV, p. 1333.
- Giacomini (de).** — Die diagnostische Bedeutung des Nachweises der Tuberkelbacillen im Stuhl. *Fortsch. Med.*, Bd. I, p. 145.
- Gibier.** — *Bull. Soc. Biol.*, 1897.
- Gibbes.** — A rapid method of demonstrating the tubercle bacillus, without the use of nitric acid. *The Lancet*, 5 mai 1883, p. 771.
- Ginsberg.** — Ueber der Tuberkulose ähnlichen Augenerkrankungen mit säurefesten Bacillen. *Centralb. f. prakt. Augenheilkunde*, vol. XXI, 1897, p. 131.

- Gorgano et Neste.** — Sur certaines méthodes de recherche du bacille de Koch dans les liquides coagulables. *Rivista crit. di chir. medica*, 1^{er} août 1903, p. 481-485.
- Gottstein.** — Die Beeinflussung des Farbenverhaltens von Microorganismen durch Fette. *Fortsch. der Med.*, 1886, p. 252.
- Gottler Sahn.** — Thierversuch u. Nierentuberculose nebst einem Beitrag zur Kenntniss des Harnes Tuberculöser. *Berl. klin. Woch.*, n° 50, 14 dez. 1903.
- Gougerot.** — Marche de l'infection lépreuse. *Tribune médicale*, 2 mars 1906.
- Grethe.** — Smegma u. Tuberkelbacillen. *Fortsch. der Med.*, 1^{er} mai 1896, n° 9, p. 329.
- Grimme.** — Die wichtigsten Methoden der Bakterien Färbung in ihrer Wirkung auf die Membran, den Protoplasten u. die Einschlüsse der Bakterienzellen. *Zentralb. f. Bakt.*, I Abt. Eg. Bd. 32, 1902, n° 1. S. 1-6, 161-180. 190, 241-255, 321-327.
- Groening** — Bact. tuberc. dans le beurre. *Centralzeitung f. veter. Angelegenk.*, avril 1898, p. 111-119.
- Grünbaum.** — *The Lancel*, n° 9, janvier 1897.
- Hammerschlag.** — Bakteriöl. Chemische Untersuchungen über Tuberkelbacillen. *Sitzungs-Berichte d. R. Acad. d. Wissensch. Wien*, 13 dez. 1888, et *Centralb. f. klin. Med.*, 1891, p. 1.
- Hammond.** — Note sur la coloration du bacille de la tuberculose. *Soc. Biol.*, 29 oct. 1897.
- Haüsemann (von).** — Ueber säurefeste Bacillen bei Python reticularis. *Centralb. f. Bakt.*, I Orig. t. XXXIV, n° 3, 22 juillet 1903, p. 212-213.
- Hauser.** — Note sur la coloration du bacille de la tuberculose. *Bull. Soc. Biol.*, 29 août 1898.
- A propos de la coloration rapide du bacille de la tuberculose. *Pr. méd.*, 1900, t. CXVII.
- Helbing.** — Erklärungs versuch für die spezifische Färbbarkeit der Tuberkelbacillen. *Deuts. med. Woch.*, 1901, t. XXXVI, p. 133.
- Herbert.** — *Untersuchungen über das Vorkommen von Tuberkelbacillen in der Marktbutter*. Inaug. Diss. Tübingen, 1899, verl. v. Alb. Leubach, Braunschweig.
- Herr et Beninde.** — Untersuchungen über das Vorkommen von Tuberkelbacillen in der Butter. *Zeitschr. f. Hyg.*, 1901, Heft 1, p. 152.
- Herr.** — Das Pasteurisieren des Rahms als Schutz gegen die Verbreitung der Tuberkelbacillen durch die Butter. *Zeitschr. f. Hyg.*, 1901, Heft 1, p. 182.

- Ein Beitrag zum Verhalten der Tuberkelbacillen bei Ueberimpfung auf Blindschleichen. *Zeitschr. f. Hyg.*, Bd. 38, 1901, Heft I. S. 198-200.
- Ein Beitrag zur Verbreitung der säurefesten Bacillen. *Zeitsch. f. Hyg. u. Infektionskr.*, Bd. 38, 1901, S. 201.
- Honsell.** — *Centralblatt f. Bakter.*, XXI, p. 700.
- Houston** cité par PERTIG. — *Ergeb. der allg.*, etc.
- Jacobson.** — Sur une réaction colorante des acides gras. *C. R. Soc. Biol.*, séance du 6 janvier 1906, p. 25, et 31 janvier.
- Jong (de).** — Ueber den Fund von säurefesten Tuberkelbacillen ähnlichen Stäbchen bei einer nicht tuberkulösen Mastitis. *Zeitschr. f. Fleisch. u. Milch. Hyg.*, 1901, p. 345.
- Jousset (A.).** — Résultats cliniques fournis par une nouvelle méthode de recherche du bacille tuberculeux. *Soc. méd. hôp.*, 9 janvier 1903.
- Nouvelle méthode pour isoler le bacille de Koch des humeurs de l'organisme. *Sem. méd.*, 21 janvier 1903.
- Cirrhoses alcooliques et crypto-tuberculoses. *Bull. Soc. méd. hôp.*, 1^{er} mai 1903, p. 285.
- Des septicémies tuberculeuses. *Bull. Soc. méd. hôp.*, 8 mai 1903, p. 519.
- L'inoscopie. *Arch. méd. experim.*, mars 1903, p. 289.
- *Journ. de physiol. et d'anat. pathol.*, 15 septembre 1904.
- Karlinski.** — Zur Kenntniss der säurefesten Bakterien. *Zentralb. f. Bakt.*, Bd. 29, 1901, n^o 12. S. 521-530.
- Klein.** — Zur Kenntniss der Verbreitung des Bacillus Tuberkuloses. *Zentralb. f. Bakt.*, I Abt. Bd. 28, 1900. S. 111-114.
- Propagation des bacilles pseudo-tuberculeux. *Zentralb. f. Bakt.*, 6 sept. 1899, 1^{re} partie, p. 260.
- Pathogenic microbes in Milk. *Journ. of Hyg.*, 1901, vol. I, n^o 1, p. 78-95.
- On pseudo-tuberculosis its pathology and etiology. 29 *Ann. rep. of the local Government Board 1899-1900. Rep. of the med. London*, 1901, p. 355-387.
- Klemperer.** — *Deutsche med. Wochensch.*, 1900, p. 130.
- Ueber die Beziehungen der säurefesten Saprophyten (Pseudo-Tuberkelbacillen) zu den Tuberkelbacillen. *Deuts. f. klin. Med.*, t. XLVIII, fasc. 1 et 2, 1903, p. 250-260.
- Koch.** — Die Aetiologie der Tuberkulose. *Mitteil. aus dem Kais. Gesundheitsamte*, vol. II, 1882, p. 1.
- *Die Aetiologie der Tuberkulose.* Berlin, 1884.
- Korn.** — Tuberkel Befunde in der Marktbutter. *Arch. f. Hyg.*, 1899, vol. XXXVI, p. 57.

- Weitere Beiträge zur Kenntniss der säurefesten Bakterien. *Centralb. f. Bakt.*, vol. XXVII, 1900, p. 481.
- Zur Kenntniss der säurefesten Bakterien. *Centralb. f. Bakt.*, vol. XXV, 1899, p. 352.
- Kresling.** — De la substance grasse des bacilles de la tuberculose. *Arch. gén. de Méd.*, 1902, IX, p. 359-376.
- Kühne (H.).** — *Recherches des bactéries dans les tissus animaux.* Traduction française, 1889.
- Laabs.** — *Les bacilles de la tuberculose dans le beurre et chez l'homme.* Thèse Fribourg-i-B., 1894.
- Lagriffoul.** — Sur la valeur de l'inoscopie. *C. R. Soc. Biol.*, t. LXI, n° 31, novembre, p. 356.
- De Lannoïse et Girard.** — Nouvelle méthode pour la recherche du bacille de Koch dans les crachats et le pus des tuberculeux. *Presse médicale*, 5 mai 1900.
- Laser.** — Ueber Reinkulture des Smegma Bacillen. *Münch. med. Woch.*, 1897, n° 43.
- Lehmann et Neumann.** — *Atlas u. Grundriss der Bakteriologie.* München, 1907.
- Loeffler.** — Ueber Bakterien in der Milch. *Berl. klin. Woch.*, 1897, nos 33 et 34.
- Legrain.** — La flore microbienne du smegma. *Ann. des mal. des org. gén.-urin.*, n° 7, 1900.
- Lesieur.** — Coloration du bacille de la tuberculose. *Lyon méd.*, 1899, vol. 90, p. 97.
- Lewy.** — *Ueber Syphilis u. Smegmabacillen.* Thèse 1899. Neuwied Louis Henser.
- Levy et Bitter**, cité par PERTIG. — *Ergeb. der allg. Path.*, etc.
- Lichtheim.** — Zur diagnostischen Verwertung der Tuberkelbacillen. *Fortshr. d. Med.*, 1883, Bd. I, p. 4.
- Lichtenstein.** — Ueber das Vorkommen von Pseudo-Tuberkelbacillen im menschl. Sputum. *Zeitschr. f. Tuberkulose*, Bd. 3, 1902, Heft 3, S. 193-198.
- Lombardo-Pellegrino.** — Sui bacilli acido-resistenti. *Ann. d'Ig. sper.*, t. XVI, f. 2, 1906, p. 163-198.
- Lubarsch.** — Ueber den Wert des microscopischen Tuberkelbacillen, nachweises für die aertzliche Praxis. *Deutsche Aerzte Zeitg.*, 1901, Heft 20, S. 437-459.
- Arbeiten aus dem path. anat. Abteil. des Kgl. Institut zu Posen. *Artikel Tuberkulose*, Wiesbaden, 1901, S. 7-17.
- Lubarsch et Mayr.** — Untersuchungen über die Wirkung der Microorganismen der Tuberkelpilzgruppe auf dem Organismus des

- Frosches. *Arb. aus d. path. anat. Abt. d. Kgl. Hyg. Inst. Posen*, Wiesbaden, J. F. Bergmann, 1901, S. 130-153.
- Lustgarten.** — Die Syphilis-Bacillen. *Wien. med. Woch.*, n° 47, 1884.
- Markl.** — Zur Frage des Vorkommens von Tuberkelbacillen in der Wiener Marktbutter u. Margarine. *Wien. klin. Woch.*, März 1901, n° 10, p. 242.
- Markuse**, cité par PERTIG. — *Ergeb. der allg. Path.*, etc.
- Marmoreck.** — Beitrag zur Kenntniss der Kultur u. Färbung der Tuberkelbacillen. *Zeitschr. f. Tuberkulose*, Bd. 1, 1900, S. 444-447, et 13^e Congrès médical International, 1900, section Bact., p. 71.
- Marzinowsky.** — Ueber einige in den Krypten der Gaumenmandeln gefundene Bacillenarten. *Zentralb. f. Bakt.*, Bd. 28, 1900, S. 39.
- Matterstock.** — *Mittheilung aus der med. Klinik*. Würzburg, 1885, VI.
- Mazuschita.** — Ueber die Bakterien in besprengten u. nicht besprengten Strassenstaub. *Arch. f. Hyg.*, vol. XXXV, 1899, p. 252.
- Mayer.** — *Experimentelle Untersuchungen über das Vorkommen von Tuberkelbacillen im Blute u. d. Samenflüssigkeit von an Impftuberkulose leidenden Tieren, besonder bei lokalisierter Tuberkulose*. Inaug. Diss. 29 p. Erlangen, 1900.
- Zur Pathologie der Miliärtuberkulose. *München. med. Woch.*, 1900, n°s 3 et 4. S. 71 et 124.
- Zur histologischen Differential-diagnose der säurefesten Bakterien aus der Tuberkulose gruppe. *Arch. f. path. Anat. etc.* Bd. 160, 1900, vol. 2. S. 324-358.
- Briefe aus Ostasien. *Münch. med. Woch.*, 1901, n°s 44, 45. S. 1775, 1819.
- Menzi.** — Beitrag zur Züchtung u. zur Biologie des Tuberkelbacillus. *Zeitschr. f. Hyg.*, Bd. 39, 1902. Heft 3. S. 407-427.
- Mezincescu (D.).** — *Deutsche med. Woch.*, 1905, n° 48. S. 1920.
- Michaelis (M.).** — Bemerkung zu den Artikel von Dr. L. Rabinowitsch über die Gefahr, etc. *Deuts. med. Woch.*, 1900. Verl. Berlin, n° 30.
- Milchner.** — Pseudo-tuberkelbacillen in einem Falle von hochgradiger Bronchiektasie, sowie einiges über das farberische Verhalten der Bacillen im Gewebe. *Berlin. klin. Woch.*, n° 29, 20 juillet 1903, p. 663-665.
- Mironescu (Ch.).** — Ueber das Vorkommen von Tuberkelähnlichen Bakterien im menschlichen Fäces. *Zeitsch. f. Hyg.*, 1901, vol. XXVII, p. 497.
- Moeller.** — Ueber die Beziehungen der Tuberkelbacillen zu den anderen säurefesten Bakterien u. zum Strahlenpilze. *Centralb. f. Bakt.*, 1^{re} partie, vol. XXX, 1901, n° 14, p. 513. Rapport au Congrès de Londres, 1901.

- Rabinowitsch (Lydia).** — Zur Frage der Vorkommens von Tuberkelbacillen in der Marktbutter. *Zeitsch. f. Hyg.*, 1897.
- Recherche des bacilles tuberculeux dans le beurre. *Deuts. med. Woch.*, n° 26, 1897.
- Befund von säurefesten Bakterien bei Lungengangrän. *Deuts. med. Woch.*, avril 1900, vol. I, n° 16.
- Entgegnung auf vorstehende Erwiderung von Michaelis. *Deuts. med. Woch.*, 1900, n° 30.
- Die Infektiosität der Milch, etc. *Zeitsch. f. Hyg.*, vol. XXXVII, 1901, p. 439.
- Ramond et Ravaut.** — Les bacilles pseudo-tuberculeux. *Progrès médical*, 1^{er} décembre 1900, vol. XII, série 3, p. 429.
- Rappin et Henrot.** — Bacilles acido-résistants dans l'urine des syphilitiques. *C. R. Soc. Biol.*, t. LV, mars 1903, p. 408.
- Rost.** — C. B. R. XXXVI, p. 661.
- Roth (O.).** — Ueber das Vorkommen von Tuberkelbacillen in der Butter. *Correspondenzblatt f. Schweizer Aerzte*, vol. XXIV, septembre 1894, n° 17, p. 521.
- Der mikroskopische Nachweis von Tuberkelbacillen in der Butter. *Correspond. f. Schweiz. Aerzte*, mai 1896, t. XXVI, n° 9, p. 278.
- Ueber die mikroskopische Untersuchungen der Butter auf Bakterien im besondere auf *Tuberkelbacillen*.
- Ruprecht (Johannes).** — *Ueber säurefesten Bacillen nebst Beschreibung eines Falles von spontaner Frosch. Tuberkulose.* Inaug. Dissert. Freiburg, 1904.
- Santori.** — Sulla frequenza del bacillo della Tuberculose nel latte di Roma e sul valore diagnostica delle sua colorazione caratteristica. *Ann. d'Ig. sper.*, t. X, 1900, p. 301.
- Schmorl.** — Zur Frage der Genese der Lungentuberkulose. *Münch. med. Woch.*, 1901, n° 30, p. 1993-1996 et *Münch. med. Woch.*, 1902, n° 33, p. 1379-1383, p. 1419-1424.
- Schutze.** — *Untersuchung der säurefestenpilze*, etc. Thèse Heidelberg, 1900.
- Séverin.** — Die im Miste vorkommenden Bakterien und deren physiologische Rolle bei der Zusetzung derselben. *Centralb. f. Bakt.*, 2^e partie, 1895, p. 97 et 160.
- Spengler (Carl)** — Neue Färbe Methoden für Perlsucht und Tuberkelbacillen, etc. *Deuts. med. Woch.*, 1907, n° 9.
- Ueber Splittersputa Tuberkuloser. *Zeits. für Hyg. und inf. Krankh.*, Bd. XLIX, 1905, p. 544.
- Spina.** — Untersuchungen über die Entfärbbarkeit der mit anilinen Farben tingierten Bakterien. *Allgem. Wiener mediz. Zeitschr.*, n° 15 et 16, 1883, p. 169-181.

- Spronk.** — La culture du bacille de la lèpre et le séro diagnostic de la lèpre. *Sem. méd.*, 1898, p. 393.
- Stefansky.** — Eine lepraähnliche Erkrankung etc. *Centralb. f. Bakt.*, Bd. 33, n° 7.
- Stolz.** — Ueber einen Bacillus mit Verzweigungen. *Arch. f. Hyg.*, vol. XXX, 1897, p. 156.
- Strasburger.** — Ueber den Nachweis von Tuberkelbacillen in den Fäces. *Munch. med. Woch.*, 1900, XLVII, p. 533.
- Straus.** — Sur la présence du bacille de la tuberculose dans les cavités nasales de l'homme. *Rev. de méd.*, 3 juillet 1894 et *Arch. de méd. expér.*, 1894, p. 633.
- *La tuberculose et son bacille*, 1895, Rueff. Paris.
- Tobler.** — Beiträge zur Frage des Vorkommens von Tuberkelbacillen, etc. *Zeitsch. f. Hyg. und Infekt. Krankh.*, XXXVI, janvier 1901.
- Trevithick.** — Note of the method of demonstrating tubercle Bacilli in the urine. *British med. Journ.*, 2 janvier 1904, p. 13.
- Vallée.** — Bacilles tuberculeux dégradés. *C. R. Soc. Biol.*, t. IX, 1905, n° 22, p. 1020.
- Weber.** — Ueber die Tuberkelbacillenähnlichen Stäbchen und die Bacillen des Smegmas. *Arbeiten aus dem Kaiserl. Gesundheits Amte.* Bd. 19, 1902, Hft 2, p. 251-283.
- Welsch.** — Acid-fast Bacilli. *Veterinary Journ.*, juin 1901, p. 334.
- Weyl (Th.).** — Zur Chemie und Toxicologie des Tuberkelbacillen. *Deuts. med. Woch.*, 1891, p. 256.
- Zahn.** — *Beitrag zur Lehre von der diagnostischen Bedeutung der Tuberkelbacillen.* Thèse Tübingen, 1884, Verlag Schweizerbart, Stuttgart.
- Zebrowsky (Eduard von).** — Zur Frage der Untersuchung der pleuretischen Exsudate auf Tuberkelbacillen. *Deuts. med. Woch.*, 7 septembre 1905, p. 1425-1426.
- Ziehl.** — Ueber die Färbung des Tuberkelbacillus. *Deuts. med. Woch.*, 1882, p. 451 et *ibid.*, 1883, p. 247.
- Zur Färbung des Tuberkelbacillus. *Deuts. med. Woch.*, 1888, p. 451.

TABLE DES MATIÈRES

	Pages
INTRODUCTION	7
CHAPITRE PREMIER. — Historique	13
CHAPITRE II. — Etude critique et expérimentale de la coloration du bacille de Koch	20
§ 1. — Colorants.	23
§ 2. — Agents décolorants	30
§ 3. — Autres méthodes	36
CHAPITRE III. — Etude de l'acido-résistance et de l'alcool-résistance	40
§ 1. — Mensuration de l'acido-résistance.	40
§ 2. — Mensuration de l'alcool-résistance	43
CHAPITRE IV. — Les réactions colorantes de bacilles dits acido-résistants	46
CHAPITRE V. — Enumération des bacilles dits acido-résistants.	51
CHAPITRE VI. — Les bacilles tuberculoïdes.	53
CHAPITRE VII. — Bacilles pseudo-acido-résistants.	68
§ 1. — Bacilles acido-résistants de l'urine et du smegma.	72
§ 2. — Les bacilles « acido-résistants » des sécrétions sébacées.	91
§ 3. — Les bacilles acido-résistants des épanchements pleuraux et du sang.	94
CHAPITRE VIII. — Etude des causes de la propriété acido-résistante	115
CONCLUSIONS	127
INDEX BIBLIOGRAPHIQUE.	130

